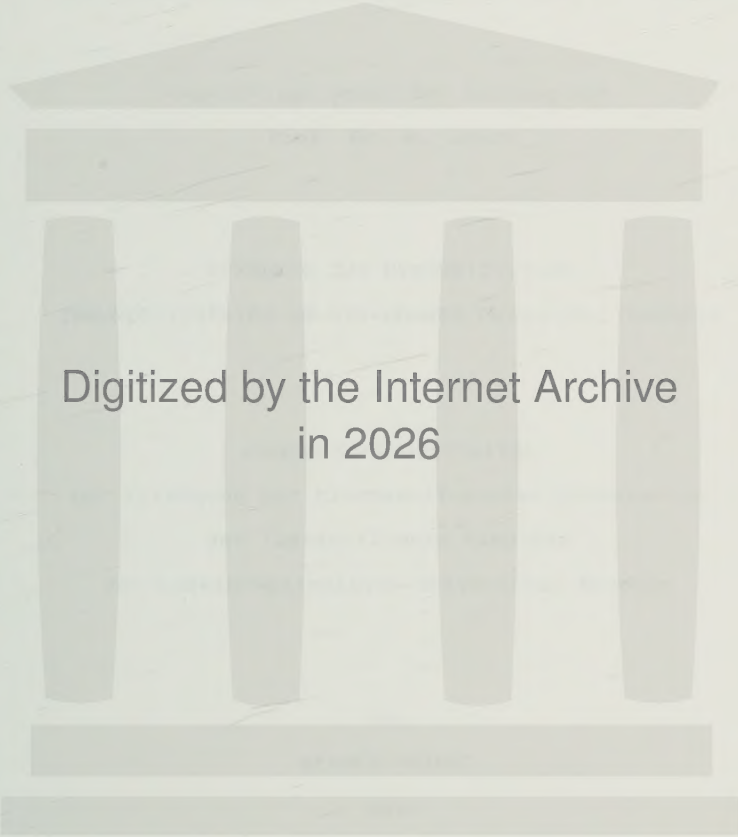


VERSUCHE ZUR REKONSTITUTION
IMMUNDEFIZIENTER
UM-B19-HÜHNER DURCH
ZELLTRANSFER

Werner Princz

*Duss
München
1985*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554825_0075

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. U. Lösch

VERSUCHE ZUR REKONSTITUTION
IMMUNDEFIZIENTER UM-B19-HÜHNER DURCH ZELLTRANSFER

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
WERNER PRINCZ
aus
Oldham / England

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. U. Lösch

Korreferent: Prof. Dr. H.G. Buschmann

Tag der Promotion: 22. Februar 1985

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

M e i n e n E l t e r n

& S v j e t l a n a

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND LITERATUR	
1.1 <u>Einleitung</u>	1
1.2. <u>Literatur</u>	5
1.2.1. Rekonstitution von Immundefizienzen durch Transplantation lymphoider Zellen	5
1.2.1.1. Restauration B-Zell abhängiger Immunfunktionen	5
1.2.1.2. Restauration T-Zell abhängiger Immunfunktionen	9
1.2.1.3. Transplantationsbarrieren	10
1.2.2. Bestrahlungseffekte auf lymphatische Organe	13
1.2.3. Rezirkulation von Lymphozyten	17
1.2.4. "Homing" von radioaktiv markierten Lymphozyten	20
1.2.5. $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Markierung von Lymphozyten	22
2. MATERIAL UND METHODEN	
2.1. <u>Tiermaterial</u>	25
2.2. <u>Antigen</u>	25
2.3. <u>Adjuvans</u>	26
2.4. <u>Verabreichung und Dosierung</u>	26
2.5. <u>Serumgewinnung</u>	26
2.6. <u>Antiseren</u>	27
2.7. <u>Immunelektrophorese</u>	27
2.8. <u>Einfache radiale Immundiffusion</u>	27
2.9. <u>Bestimmung der Agglutinationstiter</u>	27
2.10. <u>ELISA</u>	28
2.11. <u>Adoptiver Zelltransfer</u>	29
2.12. <u>Bestrahlung</u>	29
2.13. <u>Substanzen und Geräte</u>	30
2.14. <u>Präparation der Milz- und Thymuszell-suspensionen</u>	31
2.15. <u>Nylon wool Fraktionierung von Milzlymphozyten</u>	31
2.16. <u>Radioaktive Markierung der Lymphozyten mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin</u>	32
2.17. <u>Kultivierung</u>	33
2.18. <u>Messung der Radioaktivität</u>	33
2.19. <u>Statistische Methoden</u>	34

3.	ERGEBNISSE	
3.1.	<u>In vitro Studien über $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Markierung in Lymphozyten</u>	35
3.1.1.	Vergleichende Untersuchung der Inkorporation von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten in vitro nach 3 Stunden Inkubation bei Kontroll-, normo- und dysgamma-globulinämischen Hühnern	35
3.1.2.	Vergleichende Verlaufsuntersuchung der inkorporierten Radioaktivität von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten während einer 24 Stunden dauernden Kultivierung bei Kontroll-, normo- und dysgamma-globulinämischen Hühnern	37
3.1.3.	Vergleichende Verlaufsuntersuchung der relativen Metabolismusrate von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten über 24 Stunden bei Kontroll-, normo- und dysgamma-globulinämischen Hühnern	37
3.2.	<u>Migrationsversuche in Gewebskompartimente</u>	41
3.2.1.	Verteilung der Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spendermilzzellen in unbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere	42
3.2.2.	Verteilung der Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spendermilzzellen in 48 Stunden zuvor milzbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere	42
3.2.3.	Verteilung der Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spenderthymuszellen in 48 Stunden zuvor thymusbestrahlte dysgammaglobulinämische Empfängertiere	45
3.3.	<u>Auswirkung der Bestrahlung auf die Aufnahmefähigkeit der Empfängermilz</u>	48
3.3.1.	Allgemeine Angaben zu den normogammaglobulinämischen Spender- und Empfängertieren	49
3.3.2.	Vergleichende Darstellung der in der Milz nachgewiesenen Radioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Milzlymphozyten in unbestrahlte bzw. 48 Stunden zuvor milzbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere	49

	Seite
3.4.	<u>Zelltransfer in bestrahlte immundefiziente Empfänger-tiere</u> 53
3.4.1.	Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serum-Ig-Konzentrationen nach Übertragung von Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in milzbestrahlte HSA- und FCA-vorimmunisierte dysgammaglobulinämische Empfänger-tiere 54
3.4.2.	Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serum-Ig-Konzentrationen nach Übertragung von Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in milzbestrahlte HSA- und FCA-vorimmunisierte dysgammaglobulinämische Empfänger-tiere 57
3.4.3.	Vergleichende Gegenüberstellung der in 3.4.1. und 3.4.2. dargestellten Ergebnisse 64
3.5.	<u>Zelltransfer in unbestrahlte immundefiziente Empfänger-tiere</u> 65
3.5.1.	Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serum-Ig-Konzentrationen nach Übertragung von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in unbestrahlte nicht vorimmunisierte dysgamma-globulinämische Empfänger-tiere 65
3.5.2.	Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serum-Ig-Konzentrationen nach Übertragung von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in unbestrahlte HSA-vorimmunisierte dysgamma-globulinämische Empfänger-tiere 70
3.5.3.	Vergleichende Gegenüberstellung der in 3.5.1. und 3.5.2. dargestellten Ergebnisse 74
4.	DISKUSSION 75
5.	ZUSAMMENFASSUNG 88
6.	SUMMARY 90
7.	TABELLARISCHER ANHANG 92
8.	LITERATURVERZEICHNIS 101

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ATP	Adenosintriphosphat
cGy	centiGray
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FCA	Freund's complete Adjuvant
HSA	Humanserumalbumin
Ig	Immunglobulin
LPS	Lipopolysaccharid
ME	2-Mercaptoäthanol
MHC	Hapthistokompatibilitätskomplex
RNA	Ribonucleinsäure
UM	Universität München
UMP, UDP, UTP	Uridinmono-, di-, triphosphat

1. EINLEITUNG UND LITERATUR

1.1. Einleitung

Die am Institut erstellte immundefiziente Hühnerlinie ist charakterisiert durch das gehäufte Auftreten einer erblichen Dysgammaglobulinämie. Das Hauptmerkmal der permanent dysgammaglobulinämischen Tiere stellt eine gegenüber der Norm extrem erniedrigte IgG-Konzentration bei erhöhten IgM- und IgA-Werten dar (95). Aus der ursprünglich genetisch heterogenen Population gelang es 1977 eine bezüglich des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC; 117) homozygote Linie der Blutgruppe B19 (Genotyp B19B19) herauszuzüchten (38). Die Histokompatibilität innerhalb der isogenen UM-B19-Hühnerlinie wurde durch Hauttransplantationsversuche (128) und mixed lymphocyte reaction (MLC; BÖHRINGER u.a., nicht publiziert) bestätigt.

Der als MHC-unabhängig geltende Immundefekt der erblich dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühner kann durch Störungen während der Differenzierung, bzw. durch Unregelmäßigkeiten der Interaktion und Biosynthese von lymphoiden Zellen verursacht sein (95,97).

Einerseits kommen Abweichungen im Bereich der T-Zellregulation in Frage: Mangel an Isotyp-spezifischen T-Helferzellen, defekter T-Helferfaktor, Erhöhung der Isotyp-spezifischen Suppression auf B_G-Zellen mit gestörtem B_G- zu T-Suppressorzell- und T-Helfer- zu T-Suppressorzellverhältnis. Andererseits sind Störungen auf der B-Zellseite in Betracht zu ziehen: Defekte der Bursa Fabricii, deren induktiver Einfluß zur Ausreifung der B_G-Zelle nötig ist (92,94), wodurch ein Differenzierungsblock betreffend dem "switch" von IgM- zu IgG-synthesefähigen B-Zellen verbunden sein kann (102).

Weiterhin gelten als mögliche Ursachen Defekte der B-Zellrezeptoren und somit des Empfangs von T-Helfersignalen bei der antigenen Stimulierung sowie das Fehlen eines negativen Rückkopplungsmechanismus zwischen IgG und IgM (142).

In der vorliegenden Arbeit werden immunregulatorische Mechanismen der Dysgammaglobulinämie bei UM-B19-Hühnern mittels adoptiver Übertragung von histokompatiblen Lymphozyten untersucht.

Unter der Annahme einer beeinträchtigten B_G -Zellfunktion assoziiert mit Störungen der T-Helfer-T-Suppressorzellregulation, wird an Hand dieses Modells der Versuch einer Rekonstitution der IgG-Synthesefähigkeit dysgammaglobulinämischer UM-B19-Hühner unternommen. Zu diesem Zweck werden Milz B- und T- bzw. T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer UM-B19-Spender in dysgammaglobulinämische UM-B19-Empfängertiere übertragen und deren Immunantwort gegenüber dem T-abhängigen Antigen HSA unter zusätzlicher Verabreichung von FCA gemessen. Folgende Wirkungsmechanismen können den transferierten Lymphozyten bezüglich ihrer immunregulatorischen und immunrestaurativen Kapazität möglicherweise zugeordnet werden:

- a) Bei Störungen der T-Helferzellfunktion: direkte Stimulierung der Proliferation und Differenzierung spezifischer B_G -Zellklone durch die Übertragung von Isotyp-(IgG-)spezifischen T-Helferzellen.
- b) Bei erhöhter T-Suppressoraktivität: Einstellung einer T-Helfer-T-Suppressorzell-Homöostase durch die Verdrängung der Isotyp-(IgG-)spezifischen T-Suppressorzellen.

- c) Bei einem Überschuß an B_M -Zellen: Ausgleichen des B_M - zu B_G -Zellmißverhältnisses und Aktivierung des negativen Rückkopplungsmechanismus durch die Übertragung von B_G -Zellen.

Interaktionen zwischen T- und B-Lymphozyten und Makrophagen sowie deren Produkte bestimmen Quantität und Qualität verschiedener Immunantworten (20,37,80).

In diesem Zusammenhang werden die Auswirkungen einer Vorbehandlung der Empfängertiere in Form einer fokussierten Milzbestrahlung in die Untersuchungen miteinbezogen.

Die Milz als "microenvironment"*) ist für den funktionellen Erwerb der Regulationsmechanismen sowohl der humoralen als auch der zellvermittelten Immunität erforderlich und damit für die Kontrolle der Suppressoraktivität von Milz T-Lymphozyten oder löslichen Milzzellfaktoren sowie Reifung der T-Helferzellen (47,164,167). Auf Grund der heterogenen Radiosensitivität von Lymphozyten können strahleninduzierte Alterationen der Zellinteraktionen und Immunleistungen hervorgerufen werden (5,22).

Zur Untersuchung der physiologischen Migration der übertragenen Zellen aus der Blutbahn in die verschiedenen Gewebekompartimente, mit oder ohne vorheriger Organbestrahlung, werden in vitro und in vivo Studien mit $6-^3H$ Uridin markierten Lymphozyten durchgeführt.

*) Der im Angelsächsischen gebräuchliche Ausdruck microenvironment bedeutet die Interaktion zellulärer und humoraler Produkte eines Organs auf die Differenzierung der Zellen, hier der Lymphozyten des betreffenden Organs.

Folgende Fragestellungen gaben Veranlassung für die durchgeführten Untersuchungen:

1. Können dysgammaglobulinämische UM-B19-Hühner bezüglich ihrer IgG-Synthesefähigkeit gegenüber dem T-abhängigen Antigen HSA durch exogene Stimulation in Form einer Übertragung von histokompatiblen Milz B- und T- bzw. T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer Spender rekonstituiert werden?
2. Kann die immunrestaurative Kapazität der übertragenen Milzlymphozyten durch vorherige fokussierte Bestrahlung der Empfänger milz verstärkt werden?
3. Wird die Lokalisation der transferierten Milzlymphozyten in der durch Bestrahlung von lymphoiden Zellen depletierten Empfänger milz begünstigt?

1.2. Literatur

1.2.1. Rekonstitution von Immundefizienzen durch Transplantation lymphoider Zellen

Das experimentelle Modell der Rekonstitution immunologischer Defizienzen mittels adoptiver Zellübertragung ermöglicht Studien über die zelluläre Kooperation zwischen B- und T-Lymphozyten und deren immunregulatorische bzw. immunrestaurative Kapazität. In der folgenden Übersicht werden die Restauration humoraler und zellulärer Immunfunktionen sowie die hiermit zusammenhängenden Transplantationsbarrieren beschrieben.

1.2.1.1. Restauration B-Zell abhängiger Immunfunktionen

Im aviären Immunsystem weist die Bursa Fabricii als zentrales lymphoides Organ eine charakteristische Funktion bei der Entwicklung der von der Bursa abstammenden B-Lymphozyten auf. Sie ist verantwortlich für die Ontogenese der humoralen Immunität. Beim Vogel können folglich die B-Zelldifferenzierung und ihre Reifung zu potentiell Antikörper-produzierenden Zellen durch unterschiedliche Manipulationen auf Bursa und postbursale periphere lymphoide Zellen - embryonal oder früh post-embryonal - abrupt unterbrochen werden. Nach einer Übersicht von IVANYI (70) lassen sich folgende Techniken darstellen: chirurgische Bursektomie, Testosteronproprionat-, Cyclophosphamid-Behandlung, Injektion von Anti- μ -Ketten, lokale Bursabestrahlung und Kombinationen dieser Eingriffe.

Abhängig vom Zeitpunkt der Eingriffe entstehen hierdurch humorale Immundefizienzen von unterschiedlichem Ausmaß: Verlust von lymphatischen Zellen in den Bursa-follikeln, Inhibition der B-Zellreifung, verminderte Migration der Lymphozyten in die peripheren lymphatischen Organe, Reduzierung von Keimzentren und Störung der Plasmazellbildung und -reifung in der Milz, Immunglobulindefizienz (Dys- bzw. Agammaglobulinämie), Störung der Antikörperproduktion auf T-abhängige und T-unabhängige Antigene (69,152) und Einschränkung des Antikörperrepertoires bzw. Eliminierung der Antikörperaktivität bei vorhandener Immunglobulinsynthese (150).

MERKENSCHLAGER et al. (104) und FIEDLER et al. (39) beschreiben eine durch frühembryonale Testosteronpropionat-Behandlung bzw. durch perinatale chirurgische Bursektomie erzeugte humorale Immundefizienz, die phänotypisch der erblichen Dysgammaglobulinämie gleicht.

A. Transplantation in neonatale Empfänger

Abhängig vom Reifegrad der transferierten Zellen lassen sich unterscheiden:

Bursastammzellen:

Die Übertragung von histokompatiblen oder semi-allogenen Bursastammzellen von < 4 Wochen alten Spendertieren induziert eine vollständige morphologische und funktionelle Rekonstitution des Bursa-abhängigen Immunsystems in Cyclophosphamid-behandelten ($\pm$ zusätzlicher Bestrahlung) neonatalen Küken (62,99,152,156). Dagegen führen allogene Bursastammzellen nur zu einer Restauration der Bursamorphologie und der Antikörper-Bildung gegen T-unabhängige Antigene (149,156).

Die Restauration der Bursamorphologie beinhaltet eine Repopularisierung des Bursarudiments mit Proliferation und Differenzierung der Stammzellen. Die Rekonstitution der Bursa-abhängigen Immunfunktionen schließt die Antikörper-Bildung gegen T-abhängige und T-unabhängige Antigene, Keimzentrubildung und Immunglobulinsynthese ein.

Die Übertragung von histokompatiblen Thymuszellen zeigt keine restaurative Wirkung (149).

Die Reife der lokalen Umgebung ("microenvironment") und der transplantierten Zellen ist ein entscheidender Faktor für die Aufnahme lymphoider Spenderzellen (154). Cyclophosphamid-behandelte 18 Tage alte Embryonen können einzig mit histokompatiblen Bursazellen 15 Tage alter Embryonen funktionell und morphologisch rekonstituiert werden, nicht dagegen mit Milz- oder Knochenmarkzellen 15 Tage alter Tiere (36). HIROTA und BITO (62) zeigen eine stärkere immun-restaurierende Wirkung syngener Bursazellen 4 Wochen alter Spender im Vergleich zu Zellen von 10 Tage alten Tieren.

Postbursale Zellen:

In der Bursa entstehen zeitlich aufeinanderfolgend Zellen, die zur IgM-, IgG- und IgA-Synthese befähigt sind (84,92,115). In dieser Reihenfolge verlassen diese postbursalen Zellen zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten die Bursa (54,83,84). Sie siedeln sich zwischen dem 16. Embryonaltag und der 4. Lebenswoche in den peripheren lymphoiden Organen an, zunächst in der Milz, danach im Knochenmark und Thymus (153, 155).

Die Bursa beinhaltet während dieser Zeit sowohl immunkompetente postbursale Zellen als auch weniger reife Bursastammzellen (102,136,151). Postbursale Zellen benötigen keinen weiteren Einfluß des bursalen microenvironments für ihre Differenzierung. Sie können nach Übertragung direkt in die Milz wandern bzw. die Bursa rasch durchlaufen; die Repopularisierung der Bursa Fabricii ist jedoch nicht notwendig (136).

Histokompatible reife postbursale Zellen > 4 Wochen alter Spendertiere führen zu einer langfristigen vollständigen funktionellen Rekonstitution humoraler Immunfunktionen in chemisch, chirurgisch oder hormonell "bursektomierten" neugeborenen Empfängern (20,57,68,98,151,153,155, 163). Eine Restauration der Bildung von Keimzentren findet nur in wenigen Fällen statt. Peripherie B-Zellen stehen unter einer hormonellen Kontrolle der Bursa; BABA und KITA (9) zeigen die Rekonstitution einer gestörten IgG-Immunantwort durch Bursaextrakte.

B. Transplantation in ältere Empfänger

Untersuchungen von TOIVANEN et al. (154) bezüglich der Restauration der humoralen Immunität in 4,5 Wochen alten agammaglobulinämischen Empfängerhühnern sind von besonderem Interesse im Hinblick auf Immundefizienzen beim Mensch. Eine längerfristige Rekonstitution der humoralen Immunität kann durch die Übertragung von histokompatiblen Bursa-, Milz-, Knochenmark- oder Thymuszellen in keinem Fall erzielt werden.

Die Thymus-abhängige Immunität kann dagegen durch Übertragung von histokompatiblen Milzzellen 10 Wochen alter Spender in neonatal Cyclophosphamid-behandelte, einen Tag vor dem Zelltransfer ganzkörperbestrahlte, Empfänger restauriert werden. (Der Transfer erfolgte bei 4,5 Wochen alten Empfängern.) Dabei ist die kombinierte Vorbehandlung (Cyclophosphamid und Bestrahlung) der Empfänger für die längerfristige Aufnahme der T-Zellfunktion rekonstituierender Zellen entscheidend. Eine kurzfristige Antikörper-Bildung gegen T-abhängige und T-unabhängige Antigene erfolgt bei gleicher Konditionierung der Empfänger nach Übertragung von histokompatiblen Milz- oder Bursazellen 10 Wochen alter Spender.

ADDISON (1) zeigt bei der Maus die Rekonstitution der humoralen Immunität in erwachsenen immunologisch inerten Empfängern nach Übertragung von syngenen Milzzellen erwachsener Spender.

1.2.1.2. Restauration T-Zell abhängiger Immunfunktionen

Der Thymus zeigt seine Funktion als zentrales lymphoides Organ in der Entwicklung der vom Thymus abstammenden T-Lymphozyten, welche für die zellvermittelte Immunität verantwortlich sind. T-Lymphozyten spielen eine wichtige Rolle bei der Immunglobulin- und Antikörperproduktion im Falle einer T-abhängigen Immunantwort. Die Besiedlung transferierter Bursastammzellen in das durch Cyclophosphamid-Behandlung induzierte Bursarudiment, die Rekonstitution der Bursafollikel und die Reifung zu potentiell IgA-synthetisierenden Zellen sind weiterhin Thymus-abhängig (62,91,119).

Die zusätzliche Thymektomie Cyclophosphamid-behandelter und bestrahlter neugeborener Küken zeigt nach Transplantation von Bursastammzellen keine wirksame Rekonstitution des B-Zell abhängigen Immunsystems (62).

Die kongenitale Athymie nackter Mäuse, und thymektomierte Tiere dienen als geeignete experimentelle Modelle.

In den von KINDRED (85) untersuchten nackten Mäusen können T-abhängige Immunreaktionen durch die Übertragung von histokompatiblen reifen T-Zellen oder von neonatalem Thymusgewebe längerfristig restauriert werden. Die T-abhängigen Gebiete der sekundären lymphoiden Organe werden anschließend repopularisiert. Die Restauration der humoralen Immunität und der Transplantationsabstoßung wird durch die Übertragung von histokompatiblen Milz B- und T-Zellen erreicht. HOPKINS (65) beschreibt die Entwicklung von T-Helfer- und Suppressorfunktionen in erwachsenen athymischen Mäusen nach Übertragung von Thymozyten. Erwachsene thymektomierte, bestrahlte Mäuse können durch die Übertragung von Knochenmarkszellen und Thymusgewebe histokompatibler Linien bezüglich ihrer humoralen Immunfunktion rekonstituiert werden (29). Sekundärantworten auf T-abhängige Antigene können nur nach Transfer von histokompatiblen B- und T-Zellen auftreten, nicht jedoch durch Thymushormone, T-Zellfaktoren oder allogene Zellen (85).

1.2.1.3 Transplantationsbarrieren

Immungenetische Faktoren sind für eine effektive Kooperation der Spender- und Empfängerzellen und Makrophagen von Bedeutung. Antikörperbildung,

antigene Präsentation, Keimzentraubildung und Regulation der Immunantwort sind davon abhängig. Hierzu müssen die Zellen einen dem Haupthistokompatibilitäts-Antigenkomplex determinierenden Haplotyp teilen (85,149,156).

Die Transplantation von hämopoetischen B-Zellen Allotyp-kongener Linien wird nach IVANYI und MAKINGS (71) durch Resistenzbarrieren begrenzt. TOIVANEN et al. (154) postulieren das Vorhandensein einer Barriere nach Transplantation von syngeneten Zellen. Dabei unterscheidet sich die "syngene Resistenz" des T-Zellsystems von der des B-Zellsystems. Dadurch ist eine Dissoziation der Restauration von T- und B-Zellfunktionen feststellbar. Die transferierten B-Zellen bewahren eine permanente "Fremdheit" mit antagonistischer Wechselbeziehung zu den Empfänger B-Zellen. Der relative Anteil der vom Spender- bzw. Empfänger-stammenden B-Zellen in MHC-kompatiblen Transplantationschimeren kann durch verschiedene Allotypmarker quantitativ erfaßt werden (71). Es wird zwischen Empfängerresistenz (Spender-Allotypsuppression) und Spenderresistenz (Empfänger-Allotypsuppression) unterschieden. Letztere führt zu Störungen der B-Zellreifung und Immunglobulinsynthese des Empfängers. Spender- und Empfänger-Allotypspiegel verhalten sich umgekehrt proportional.

Nach einer Übersicht von IVANYI (69) kann eine Überwindung der Empfängerresistenz mit Aufnahme der Spenderzellen durch folgende Bedingungen erreicht werden:

- a. Erhöhung der Anzahl der lymphoiden Spenderzellen.
- b. Spenderzellart: Milzzellen > periphere Blutlymphozyten > Knochenmarkzellen > Thymuszellen. Gegenüber Bursazellen besteht keine Empfängerresistenz.
- c. Konditionierung des Empfängers: Cyclophosphamid-Behandlung > Bestrahlung > keine Vorbehandlung.
- d. Alter des Empfängers: die Barriere nimmt mit dem Alter zu.

Ein nicht immunologischer primitiver "Resistenz-ähnlicher" Überwachungsmechanismus ist möglicherweise für die Transplantationsbarriere verantwortlich. Bei isogenen Empfänger-Spender-Kombinationen kann die Fremdheit der B-Zellen allein durch das polymorphe System des Antikörper-Idiotyp-Netzwerkes bedingt sein (88).

1.2.2. Bestrahlungseffekte auf lymphatische Organe

Die suppressive Wirkung der Bestrahlung auf lymphoides Gewebe, isolierte Lymphozyten, Antikörper-Produktion und zelluläre Immunität wird durch physikalische (Strahlenart, -dosis, -dosisrate; 23,48) und biologische Faktoren (Stadium des Zellzyklus, Regenerationsfähigkeit, Zeitpunkt der Antigen-Gabe in Relation zum Zeitpunkt der Bestrahlung) bestimmt (5). Proliferierende und differenzierende Zellen der lymphoiden Gewebe und des rezirkulierenden Pools sind sehr radiosensitiv. Durch Bestrahlung kommt es zu ultrastrukturellen und biophysikalischen Alterationen: Plasma-, Kernmembran-, Nukleinsäureschädigung, Chromosomenbrüche, ATP-ase-Enzymaktivierung, metabolische Störungen, Interphasen- und Mitosezelltod (75). Die Suppression ihrer Teilungsfähigkeit stellt jedoch den einzig vernünftigen Parameter für die Radiosensitivität der Lymphozyten bezüglich ihrer Immunreaktivität dar (22).

Die lokale Thymus- bzw. Milzbestrahlung führt zu einem Gewichtsverlust dieser Organe innerhalb von 24 Stunden, bedingt durch Depletion der Lymphozytenpopulationen, mit einem Regenerationsverlauf über 20 bzw. 30 Tage (144). Die Involution des lymphatischen Gewebes wird sowohl durch direkte Zellschädigung (skopal) als auch zu 20-30 % durch Fernwirkungen (ab-skopal) bedingt (107). Endotheldegeneration wird durch die Freisetzung proteolytischer Enzyme hervorgerufen (113). Stromaelemente sind radioresistent (146).

Neben der strahleninduzierten allgemeinen Stimulierung des retikuloendothelialen Systems (RES; 135) erweisen sich die Makrophagen bezüglich ihrer Migrationsaktivität und Phagozytose von Zelltrümmern und Antigenen

als radioresistent; die intrazelluläre Verarbeitung kann jedoch beeinträchtigt sein. Bei Proteinantigenen wird eine höhere Antigen-Bindungsfähigkeit und somit verstärkte immunogene Präsentation festgestellt. Die follikuläre Retention des Antigens in der Milz mittels dendritischen retikulären Zellen kann mit 450 cGy inhibiert werden (74).

Hinsichtlich der strahleninduzierten Hemmung der humoralen Antikörper-Bildung zeigen sich Lymphozytensubpopulationen bezüglich ihrer Radiosensitivität heterogen (5,22).

B-Zellen sind radiosensitiver als T-Zellen (3,78,112) mit raschem strahleninduziertem Interphasen- und Mitosezelltod. Thymus-unabhängige B-Zellkompartimente der Milz werden stärker und früher depletiert als Thymus-abhängige T-Zellbereiche (33). Reife Antikörper-synthetisierende Plasmazellen sind extrem radioresistent (53,106). Immunglobuline sind bezüglich ihres Reaktionsvermögens und ihrer Antigen-bindungskapazität strahlenunempfindlich (124).

Bestrahlung induziert eine Suppression bzw. Verzögerung der primären Antikörper-Bildung (140). Nach ZAALBERG et al. (168) weisen IgG- und IgM-Immuntworten auf T-abhängige Antigene identische Radiosensitivität auf. Dagegen beschreiben KATAOKA und SADO (78) eine höhere Strahlenresistenz der Milz B_γ- (D_0 Letaldosis = 200 cGy) im Vergleich zu B_μ- und B_α-Zellen (D_0 = 60-120 cGy).

Bei Strahlendosen < 450 cGy ist die Sekundärantwort generell strahlenresistenter als die Primärantwort.

Dagegen kann die Radiosensitivität von "geprimten" und "ungeprimten" Zellen bei Dosen > 450 cGy als identisch betrachtet werden (5). Die bei der sekundären Antikörper-Bildung beteiligten B-Zellen stellen spezifische Differenzierungsprodukte des Gedächtniszellpools dar, die durch den primären antigenen Stimulus induziert wurden. Eine subletale Vorbestrahlung kann diesen Pool in Abwesenheit eines antigenen Stimulus innerhalb von 24 Stunden vollständig zerstören (33,53, 110) und somit die Sekundärantwort in dieser radiosensitiven Adaptationsphase beträchtlich supprimieren (140). Bei vorhandenem Antigen-Depot besteht eine Korrelation zwischen dem Wiedererscheinen von Keimzentren und der Regeneration des spezifischen Immun-Gedächtnispotentials (148).

Innerhalb der T-Zellpopulation von Milz bzw. Thymus befinden sich 5-10 % strahlenresistente Lymphozyten (77,78). JANEWAY (73) und ANDERSON und WARNER (4) beschreiben die Radioresistenz der T-Helferzellsubpopulation ($D_{37} = 37\%$ Überlebensrate = 230 cGy) im Vergleich zu den sonstigen T- und B-Zellen ($D_{37} = 70-100$ cGy). Nach dem initialen radiosensitiven Antigen-induzierten Differenzierungsprozeß und der klonalen Expansion, benötigt die T-Helfer-Effektorzelle keine weitere Proliferation, sie ist somit radioresistent (58). Antigen-aktivierte T-Helferzellen können über repair-Mechanismen ihre radiosensitiven Lymphozytenstrukturen stabilisieren (80,82) und sich so vor dem strahleninduzierten Interphasenzelltod schützen (111,138). Die regulierende Suppressorzellkomponente gilt dagegen als radiosensitiv (100,103, 108). Nach antigener bzw. mitogener Aktivierung weist diese Effektorzelle kurzfristig eine geringfügig höhere Strahlenresistenz auf.

Bezüglich der Immunstimulation durch Bestrahlung im Zusammenhang mit Zelltransfer wird über folgende Verhältnisse berichtet:

- 1) Lokale akute 500 cGy Strahlendosen 24 Stunden vor der Zellübertragung zerstören Organstrukturen nicht in dem Ausmaß, daß die Rezirkulation bzw. Migrationsfähigkeit der transferierten Lymphozyten inhibiert werden (5).
- 2) Die vor Antigen- und Spenderzellgabe strahleninduzierte regionale Depletion von lymphoiden Zellen der Empfängerorgane erzielt "Raum" bzw. ein "Milieu" für die verstärkte Lokalisation, Proliferation und Differenzierung von immunkompetenten Spenderzellen (18,26,154). Die übertragenen Zellen interagieren mit den körpereigenen repopularisierenden rezirkulierenden Lymphozyten und haemopoietischen Stammzellen des Knochenmarks (5,23).
- 3) Feedbacksignale zwischen verschiedenen T-Lymphozytensubpopulationen bestimmen das immunologische Gleichgewicht. Durch Beeinflussung einer Subpopulation werden homöostatische regulatorische Mechanismen zwischen T-Suppressor- und T-Helferzellen alteriert (5). Die spezifische Eliminierung von radiosensitiven regulatorischen T-Suppressorzellen in der Milz, mit dadurch erhöhter T-Helferzellaktivität, führt zu einer verstärkten Immunantwort auf T-abhängige Antigene (47,61).

1.2.3. Rezirkulation von Lymphozyten

Der rezirkulierende Pool von Lymphozyten beinhaltet beim Huhn sowohl vom Thymus abstammende T-Zellen (als wesentlichen Anteil) als auch von der Bursa abstammende B-Zellen (42). Sie erwerben während ihrer Differenzierung die Kapazität, sich in spezifische Gebiete der peripheren lymphoiden Gewebe während der Zirkulation zu lokalisieren (Phänomen der Ecotaxis; 66,116). Die Rezirkulation von Lymphozyten zwischen Blut und Gewebe erfolgt in verschiedenen Phasen (45). Neben der Verteilung auf dem Blutwege findet eine selektive Wanderung im Gewebe statt, die durch eine Anzahl noch unbekannter spezifischer Interaktionen und Affinitäten zwischen Lymphozyten und Endothel der kleinen Gefäße lymphoider Gewebe bestimmt wird. (42). Der Rücktritt ins Blut erfolgt über lymphatische, interstitielle und venöse Zuflüsse. GRISCELL et al. (52) beschreiben das Phänomen des "organ type homing", bei dem sich Zellen in jenem lymphoiden Organ des Empfängers in höherer Zahl lokalisieren, dem sie entstammen. Das Auftreten spezifischer "Milz-suchender" rezirkulierender Lymphozyten in TDL (thoracic duct lymphocytes) kann von FORD et al. (46) nicht bestätigt werden. WU und LANCE (167) zeigen dagegen ein selektives "homing" von relativ kurz-lebigen Thymozyten in die Milz.

Die spezifischen Rezirkulationsgebiete der Lymphozytenpopulationen in der Milz können mittels autoradiographischer Untersuchungen mit ^3H -Nukleosid-markierten Bursalymphozyten (24) bzw. Markierung mit Anti-Hühner-Bursa-, Thymuszell-globulin (63), wie folgt beschrieben werden:

Transferierte B-Lymphozyten verteilen sich in die thymusunabhängigen B-Zellkompartimente der Milz (116). Nach anfänglicher Lokalisation in der Marginalzone finden sich die Ig-tragenden Zellen 24 Stunden nach der Übertragung im peripheren Bereich der periarteriolen lymphatischen Scheide (PALS) und im unmittelbaren Bereich der Schweigger Seidel Scheide (SSS). Weiterhin werden B-Zellaggregate im periellipsoidalen lymphatischen Gewebe mit Akkumulation in der Bifurkation der zentralen Arteriole festgestellt (24,32,42, 63,116,137). Letztere basophilen Gebiete stellen das "aviäre primäre Follikeläquivalent" dar, das sich nach Antigenverabreichung zu einem Keimzentrum entwickelt. Verschiedene Faktoren beeinflussen die selektive follikuläre Lokalisation der B-Zellen (26,165): Oberflächenimmunglobuline bei der Antigen-spezifischen (24), nicht bei der Antigen-unspezifischen Retention (25), Fc-Rezeptoren (27), Antigen-Antikörper-Komplexe und/oder dendritische Makrophagen (31) und Alter der Empfängertiere (24).

Transferierte T-Lymphozyten besiedeln die Thymus-abhängigen Bereiche der Milz (32). Sie treten über die Marginalzone in die weiße Pulpa und lokalisieren sich vornehmlich in der periarteriolen lymphatischen Scheide (24,42,116). Vereinzelt liegen sie zwischen dem periellipsoidalen lymphatischen Gewebe und in den Keimzentren (63). Bedingt durch ihre raschere Rezirkulation finden sich T-Lymphozyten häufiger in den venösen Sinusoiden der roten Pulpa als B-Lymphozyten (137).

Die Transitzeit durch die Milz beträgt für T-Zellen 5-6 Stunden. Die Anzahl der markierten T-Lymphozyten in der Milz nimmt zwischen 3 und 24 Stunden nach dem Zelltransfer um die Hälfte ab. Dagegen variiert die Anzahl der B-Lymphozyten nur wenig zwischen 6 und 24 Stunden, bedingt durch eine viel langsamere Transitzeit (42).

Antigene Stimulierung hat einen inhibierenden Effekt auf die Lymphozytenmigration (41) mit Akkumulation von Antigen-spezifischen und unspezifischen Populationen in der Milz (42). Das im periellipsoidalen und follikulären Bereich akkumulierte Antigen selektiert spezifisch Antigen-sensitive Zellen aus dem rezirkulierenden Pool (24,41,169). Die Interaktion zwischen Antigen-beladenen Makrophagen, B- und T-Zellen findet in der Marginalzone, in der periarteriellären lymphatischen Scheide (42,63) und in den follikulären Bereichen (24) statt. Die charakteristische Migration von B- und T-Zellen ermöglicht somit einen T-B-Zell-Makrophagensynergismus, der zur Immunantwort auf T-abhängige Antigene führt. Die Proliferation Antikörper-sezernierender Zellen bzw. die Differenzierung zu Gedächtniszellen erfolgen in den Keimzentren, dagegen kehren nicht Antigen-stimulierte Zellen ins Blut zurück (42).

1.2.4. "Homing" von radioaktiv markierten Lymphozyten

GOWANS und KNIGHT (49) beschreiben die "tracer sample" Methode, bei der eine Population markierter Lymphozyten in die Blutbahn eines histokompatiblen Empfängers transferiert wird. Die physiologische Wanderung der Lymphozyten vom Blut in verschiedene Gewebekompartimente wird verfolgt.

Der Begriff "homing" ist generell irreführend, denn die injizierten markierten Zellen befinden sich zwischen dem Zeitpunkt der Injektion und ihrem Nachweis in ständiger Rezirkulation. Influx und Efflux der Zellen bestimmen die Lokalisationsdauer in der Milz (45).

RANNIE und DONALD (121) deuten auf begrenzte Anwendungsmöglichkeiten der radioaktiven Markierung für quantitative in vivo-Migrationsuntersuchungen hin. Die Elutionsrate eines Isotopes aus den Zellen, sein weiteres Schicksal und Verhalten nach der Zellmarkierung sind entscheidende Faktoren, die bei der Bestimmung der Gewebsradioaktivität berücksichtigt werden müssen.

Die Markierung von Zellen mit Radioisotopen zeigt chemo- und radiotoxische Effekte (121,157). Hierdurch bedingte Oberflächenalterationen und Schädigung der Zellen führen zu einer Retention der markierten Lymphozyten in Leber und Lunge (25,45). Der Nachweis von Radioaktivität in der Lunge läßt sich ebenfalls durch die langsame Durchströmungszeit der markierten Zellen erklären (121).

Bei der Bestimmung der Gewebsradioaktivität kann 1 μ l Blut/mg Gewebe angenommen werden; so kann der Anteil markierter Zellen, der sich in der Blutbahn befindet, vernachlässigt werden (24).

Mobile Zellpopulationen ändern ihr Verteilungsschema mit der Zeit. In den ersten Stunden nach der Übertragung von markierten Lymphozyten wird die initiale Emigration vom Blut wiedergespiegelt. 24-Stundenwerte reflektieren dagegen die Verteilung bei nahem Gleichgewicht innerhalb des rezirkulierenden Pools (121).

Die Wahl des Radioisotopes als Lymphozytenmarker ist von entscheidender Bedeutung (43). Tritiumverbindungen haben den Nachteil der hohen Elution mit signifikanter Redistribution und Persistenz im Gewebe. Dadurch können Überschätzungen der Zellkonzentrationen in nicht lymphatischen Geweben auftreten (121). Das eluierte ^3H bewegt sich im Körperwasserpool.

1.2.5. 6-³H Uridin Markierung von Lymphozyten

Die Markierung von Lymphozytenpopulationen kann für Studien ihrer spezifischen Reaktionen und Funktionen bzw. Verteilungsmuster in vivo, Kinetik der Rezirkulation bei lymphoiden Defekten und für in vitro Studien über Nukleinsäuresynthese und Metabolismus Verwendung finden (16,49,157).

Das radioaktive Pyrimidinnukleosid 6-³H Uridin gilt als spezifische RNA Vorstufe und Markersubstanz (15). Somit wird eine bevorzugte Markierung von mitotisch aktiven Zellen vermieden (26). Eine alternative Umwandlung in DNA Vorstufen ist jedoch in einem begrenzten Ausmaß möglich (43).

Die Aufnahme von 6-³H Uridin in die "säure-lösliche" Fraktion der Zelle vollzieht sich durch aktive Permeation der Zellmembran und sukzessive Phosphorylierung zu UMP, UDP, UTP durch die Uridinkinase (139). Die Haupt-6-³H Uridin Markierung liegt als 6-³H-UTP und 6-³H-UDP-Glukose vor. Die 6-³H Uridin Inkorporation in RNA stellt die "säure-unlösliche" Fraktion dar.

BREMER und FLIEDNER (15) beschreiben die Markierung von metabolisch instabilen RNA Fraktionen nach 45 Minuten Inkubation mit einer Turnoverrate von Minuten bis Stunden, dagegen nach 4 Stunden Inkubation von stabilen RNA Fraktionen mit einer Turnoverrate von Tagen bis Wochen. Diese RNA Fraktionen zeigen verschiedene metabolische Stabilität und biochemische Charakteristiken. Die intrazelluläre Verteilung des 6-³H Uridins beträgt nach 4 Stunden Inkubation 92-95 % in der "säure-löslichen" Fraktion, 5-8 % in RNA und 0% in DNA (16). Der kleine Pool von

heterogener nuklearer RNA wird schnell saturiert und besitzt eine schnelle Turnoverrate. Der große Pool von stabiler ribosomaler RNA weist jedoch eine langsamere Akkumulationsrate an Markersubstanz auf (21).

Die Katabolisierung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin erfolgt vornehmlich in der Leber. Stoffwechselprodukte im Blut sind Uridin, B-Alanin, Dihydrouracil und N-Carbamylpropionat (17).

Die $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Aufnahme und Inkorporation sind nicht nur von der RNA Syntheserate abhängig, sondern von Faktoren wie Zellart und Immunstimulation (157), vom temperaturabhängigen Transportsystem, von Unterschieden in der Zusammensetzung, Dynamik und Struktur der Zellmembran, von der Phosphorylierungsrate, der Größe und spezifischen Aktivität des UTP-Pools und von der Saturationskinetik der spezifischen intrazellulären Nukleinsäurevorstufen (16,21,139).

Solange die Zellen leben und ihr RNA Umsatz konstant bleibt, wird der in vivo Turnover der intrazellulären Radioaktivität durch ihre Markierung wiedergespiegelt (15). Die Aufnahme von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in vitro und in vivo muß nicht übereinstimmen (44,66).

In vitro markierte Zellen geben ungefähr die Hälfte der Radioaktivität innerhalb von 12 Stunden in vivo ab. Der verbleibende Rest wird vornehmlich in RNA (säure-unlöslich) inkorporiert. Nach 48 Stunden findet eine Verschiebung der zellulären Verteilung vom Kern ins Zytoplasma statt (15,43).

Die $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Markierung von Lymphozyten zeigt tier-
artliche Unterschiede.

Bei der Ratte zeigt sich, daß kleine B-Lymphozyten
im Vergleich zu kleinen T-Lymphozyten und großen
Lymphozyten in der S-Phase eine Defizienz der $6\text{-}^3\text{H}$
Uridin Aufnahme in vitro aufweisen (64,67,86,105,132).
Thymektomie führt zu einer verminderten Fähigkeit
der $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Aufnahme in Lymphozyten (158,166)
ebenso wie Vitamin B_6 Mangel (122). Eine Korrelation
zwischen schwacher Markierung und hoher Konzentration
an Oberflächen-Ig wurde nachgewiesen. Zellen mit hoher
 $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Markierung waren Ig-negativ (132). Dagegen
zeigen tolerante, neugeborene Ratten keine unter-
schiedliche Markierung von B- und T-Zellen (14). Die
 $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Inkorporation wird als Ausdruck der
T-Zellreaktivität bzw. der zellulären Immunkompetenz
angesehen (28,166).

Bei der Maus stellt die $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Inkorporation
keine selektive Markierung für T-Zellen dar (56,116,
120).

Das Huhn weist eine ähnliche Inkorporation von $6\text{-}^3\text{H}$
Uridin in Bursa- und Thymuszellen auf (24).

Beim Mensch zeigt sich eine selektive Markierung der
T-Zellen in periphere Blutlymphozyten (PBL; 131),
nicht jedoch in Tonsillenlymphozyten (139).

Die $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Inkorporation ist nicht unbedingt
eine stabile spezifische Eigenschaft einer bestimmten
lymphoiden Population, sondern ist abhängig vom funk-
tionellen Status der Zelle (139).

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Tiermaterial

2.1.1. Versuchstiere beiderlei Geschlechts entstammen der hinsichtlich des Haupthistokompatibilitätslocus homozygoten UM-B19-Hühnerlinie (38). Nach dem Serumimmunglobulinmuster unterscheidet man:

- a) permanent dysgammaglobulinämische Tiere mit gegenüber der Norm extrem niedrigen IgG-Konzentrationen bei erhöhten IgM- und IgA-Werten.
- b) normogammaglobulinämische Tiere mit der Norm entsprechenden IgG-Konzentrationen sowie normalen bzw. in Einzelfällen erhöhten IgM- und IgA-Gehalten.

2.1.2. Nicht typisierte, immunologisch unauffällige Leghorn Hühner beiderlei Geschlechtes als Kontrolltiere.

2.1.3. Alter und Haltung der Tiere

Das Alter der Tiere betrug bei Versuchsbeginn zwischen 2 und 18 Monaten. Sie wurden unter identischen Bedingungen aufgezogen. Die Haltung erfolgte in kleinen Gruppen auf Gitterrosten. Handelsübliches Jung- bzw. Legehennenalleinfutter und Wasser standen ad libitum zur Verfügung.

2.2. Antigen

Als Antigen diente Humanserumalbumin (HSA)
(Human Albumin, Behringwerke AG, Marburg/Lahn)

2.3. Adjuvans

Als Adjuvans diente komplettes Freund'sches Adjuvans (Freund's complete Adjuvant; FCA; Difco), das pro ml 0,5 mg abgetötete Mykobakterien (*Mycobacterium butyricum*) enthielt.

2.4. Verabreichung und Dosierung

2.4.1. Immunisierung mit Humanserumalbumin

In Form einer 4%igen HSA Lösung wurde HSA den Tieren in einer Dosierung von 40 mg/kg Körpergewicht bei der Erstimmunisierung und 20 mg/kg Körpergewicht bei der Zweitimmunisierung intramuskulär in die Oberschenkelmuskulatur injiziert. Als Lösungsmittel diente sterile, pyrogenfreie Ringerlösung.

2.4.2. Verabreichung von FCA und HSA

FCA wurde in einer Dosierung von 1 ml/kg Körpergewicht intramuskulär an mindestens zwei Stellen in die Oberschenkelmuskulatur injiziert.

Der oben erwähnten 4%igen HSA Lösung wurde im Verhältnis 1:1 FCA zugesetzt, mittels Ultraschallbehandlung eine gleichmäßige Emulsion hergestellt und in der oben beschriebenen Weise appliziert.

2.5. Serumgewinnung

Die Blutabnahme erfolgte durch Punktion der Flügelvene. Die Blutproben wurden anschließend bei 37°C 45 Minuten lang inkubiert und über Nacht bei 4°C aufbewahrt. Die Serumgewinnung erfolgte durch zweimaliges Zentrifugieren zu je 10 Minuten bei 500 x g. Bis zur Auswertung wurden die Seren bei -20°C tiefgefroren.

2.6. Antiseren

Die verwendeten H-Ketten-spezifischen Anti-Hühner-Immunglobulinseren wurden wie bei LÖSCH et al. (95) beschrieben, hergestellt¹⁾.

2.7. Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese in der Modifikation nach SCHEIDEGGER (127) wurde zur Einschätzung der Serumimmunglobulinkonzentrationen vor deren quantitativer Bestimmung durchgeführt.

2.8. Einfache radiale Immundiffusion

Zur Bestimmung der Serumimmunglobulinkonzentrationen wurde die "Einfache radiale Immundiffusion" nach MANCINI et al. (101), mit teilweiser Abwandlung in der von WANKE (162) beschriebenen Weise durchgeführt.

2.9. Bestimmung der Agglutinationstiter

Die Inaktivierung der 2-Mercaptoäthanol-(2-ME-)sensitiven Antikörper (10) und die Bestimmung der Anti-HSA-Agglutinationstiter mittels der passiven Haemagglutination erfolgte in der von WANKE (162) beschriebenen Weise.

Die in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) pH 7,2 suspendierten HSA-gekoppelten Schafserythrozyten wurden auf eine Konzentration von 2% eingestellt. Die Titer wurden als $\log_2$ des reziproken Wertes der letzten Verdünnungsstufe, die noch eine eindeutige Agglutination erkennen ließ, angegeben.

¹⁾ Frau Dipl. Ing. med. bioch. Svjetlana Prica-Grünler danke ich herzlichst für die Herstellung und Zurverfügungstellung monospezifischer Antiseren.

Die Ermittlung der Gesamttagglutinationstiter wie der Titer der 2-ME-resistenten Antikörper sämtlicher Proben einer Versuchstiergruppe erfolgte stets in einem Arbeitsgang.

2.10. ELISA

Die isotypspezifische Bestimmung der Anti-HSA-Antikörper wurde mittels "Enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) nach ENGVALL und PERLMANN (34), in der von STORANDT (141) beschriebenen Modifikation durchgeführt.

"Immuno-Plate-II" Platten der Firma Nunc (Nunc, Kamstrup) wurden mit Antigen (HSA) beschichtet. Von den Seren wurden in den Platten eine geometrische Verdünnungsreihe hergestellt. Zum Nachweis von gebundenen Antikörpern dienten Enzym-Antikörper-Konjugate²⁾ aus alkalischer Phosphatase und gereinigten, H-Kettenspezifischen, Kaninchen Antikörpern gegen Hühner-Immunglobuline. Als Titer wurde jeweils diejenige Verdünnungsstufe gewählt, bei der eine Extinktion von 0,1 nach einer festgelegten Inkubationszeit mit Substrat gemessen wurde. Bei jedem ELISA wurde eine Positivkontrolle mit bekanntem Antikörpergehalt mitgeführt, so daß der jeweiligen Verdünnungsstufe mit der Extinktion 0,1 ein absoluter Wert zugeordnet werden konnte. Vereinzelt gemessene Titer nicht HSA-vorimmunisierter Tiere bei der Blutentnahme zum Versuchsbeginn wurden nach Berechnung der absoluten Werte von den nachfolgenden abgezogen.

²⁾ Von Frau Dr. Ilona Kühlmann-Rabens freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

2.11. Adoptiver Zelltransfer

$1,5-10,0 \times 10^8$ unmarkierte bzw. $6-^3\text{H}$ Uridin markierte Milz- oder Thymuslymphozyten wurden, nach Resuspendieren in steriler und pyrogenfreier Ringerlösung, intravenös in die Flügelvene injiziert.

2.12. Bestrahlung

24 Stunden vor der Übertragung von unmarkierten bzw. $6-^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- oder Thymuslymphozyten erhielt ein Teil der Empfängertiere eine fokussierte Milz- oder Thymusbestrahlung mit einer Gewebstdosis von 500 cGy (rad) einer Cobalt 60 Gamma-Strahlenquelle (Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg, ^{60}Co -Quelle: Eldorado 78, ACLE, Atomic Energy of Canada Ltd., mittlere Quantenenergie 1,2 Megaelektronenvolt). Die mittlere Dosisleistung betrug am Ort dieses Organs 87,5 cGy/min und der Abstand Haut zur Quelle 78,5 cm.

a. Milzbestrahlung

Die Tiere wurden auf einem schaumgummigepolsterten Holzbrett mit Gurtriemen in Seitenlage fixiert. Bei latero-lateralem Strahlengang wurde das Bestrahlungsfeld auf die linke kaudale Rippenbogengegend in einer Größe von $6 \times 8 \text{ cm}^2$ eingestellt.

b. Thymusbestrahlung

Die Tiere wurden mit gestrecktem Hals in einer Styroporkapsel in Bauchlage eingeschlossen. Bei dorso-ventralem Strahlengang wurde die Feldgröße von $6 \times 18 \text{ cm}^2$ auf den Hals- und Brusteingangsbereich eingestellt.

2.13. Substanzen und Geräte

Medien und Zusätze

Ficoll-Paque, Pharmacia Fine Chemicals

Foetales Kälberserum (FCS), Paesel

Hanks' balanced salt solution (HBSS), Serva

L-Glutamin, Seromed GmbH

2-Mercaptoaethanol, Merck

Penicillin und Streptomycin, Seromed GmbH

Ringerlösung DAB-7, Braun Melsungen AG

RPMI 1640 ohne Glutamin mit NaHCO_3 , Seromed GmbH

$6\text{-}^3\text{H}$ Uridin, spezifische Aktivität 22,6 Ci/mmol, Amersham International plc, England

Medium 1: RPMI 1640 mit 2 mmol Glutamin sowie 100 IU Penicillin und $100\text{ }\mu\text{g}$ Streptomycin pro ml und 2% hitzeinaktiviertem foetalem Kälberserum

Medium 2: Kulturmedium: RPMI 1640 mit 2 mmol Glutamin sowie 100 IU Penicillin und $100\text{ }\mu\text{g}$ Streptomycin pro ml und 10% hitzeinaktiviertem foetalem Kälberserum

Präparationsmaterial

Combustaid, Packard

Gewebekulturflaschen 3013 F, Falcon Plastics Interchem

Glasfiterfilterpapier, Flow Laboratories

Mikrotitrationsplatten, Nunclon Intermed

Nylon wool, Fenwal Laboratories

Quickszint 212, Zinsser (Szintillationsflüssigkeit)

Szintillationsfläschchen, Zinsser

Geräte

Titertek Cell Harvester, Flow Laboratories

Packard Tri-Carb Flüssig-Szintillationsspektrometer

Packard Tri-Carb Sample Oxidizer

2.14. Präparation der Milz- und Thymuszellsuspensionen

Die für den jeweiligen Versuchsansatz vorgesehenen normogammaglobulinämischen und dysgammaglobulinämischen Hühner wurden entblutet und die Milzen und/oder Thymi aseptisch entnommen. Fettgewebsreste und Milzkapsel wurden mit einer Pinzette entfernt.

Unter weitgehendst sterilen Bedingungen wurden die Milz bzw. die Thymuslappen vorsichtig mit dem Stempel einer 10 ml-Spritze über einem Sieb (250 μ m-Maschenweite) aus rostfreiem Stahl unter ständigem Nachspülen mit Medium 1 gerieben. Die somit aufbereitete Zellsuspension wurde mit einer Pasteurpipette mehrmals resuspendiert. Verbleibende Stromareste und Zellklumpen setzten sich nach 10-15 Minuten ab. Die im Überstand befindlichen Milzzellen wurden abgehoben und vorsichtig über einen Ficoll-Gradienten geschichtet, bei 18°C und 400 x g 20 Minuten zentrifugiert. Die Lymphozytenschicht zwischen Ficoll-Paque und darüberstehendem Medium wurde sorgfältig mit einer Pasteurpipette abgehoben, in Zentrifugenröhrchen mit Medium 1 auf 25 ml aufgefüllt und dreimal in Medium 1 bei 4°C und 400 x g 10 Minuten gewaschen. Die nach Absetzen von Gewebsresten erhaltene Thymuszellsuspension wurde direkt dreimal in Medium 1 bei 4°C und 400 x g 10 Minuten gewaschen.

Die so erhaltenen Milz- und Thymuslymphozyten werden für markierte (6-³H Uridin) und unmarkierte Zelltransferversuche bzw. Kulturansätze verwendet.

2.15. Nylon wool Fraktionierung von Milzlymphozyten

T-Lymphozyt angereicherte Fraktionen aus der Milz normogammaglobulinämischer Spendertiere wurden durch

die Fraktionierung mit einer Nylon wool Säule nach der von JULIUS et al. (76) und CHANH et al. (19) beschriebenen Methode gewonnen.

$1,0-1,5 \times 10^8$ Milzzellen in 2 ml Hanks' balanced salt solution (HBSS) mit 5% foetalem Kälberserum (FCS) wurden über die Säule geschickt. Nach Inkubation (45 Minuten, 39°C) wurde die nicht adherente T-Zellfraktion mit 5% FCS-HBSS eluiert und anschließend dreimal bei 4°C und $400 \times g$ 10 Minuten gewaschen.

Nach Trypanblaufärbung und Zellzählung wurden die so erhaltenen T-Zellen in der gewünschten Konzentration für den weiteren Zelltransfer verwendet.

2.16. Radioaktive Markierung der Lymphozyten mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin

Nach Trypanblaufärbung und Auszählung der lebenden Zellen in der Neubauerkammer wurden die Zellsuspensionen auf die Konzentration von 10^7 Lymphozyten/ml in Medium 2 eingestellt.

$5,0-10,0 \times 10^8$ Lymphozyten wurden 3 Stunden mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin (spezifische Aktivität $22,6 \text{ Ci/mmol}$, $1,0 \mu\text{Ci}/10^7$ Lymphozyten) in Falcon Gewebekulturflaschen bei 39°C , 5% CO_2 und circa 90% relativer Luftfeuchtigkeit im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden die Zellen dreimal in Medium 1 bei 4°C und $400 \times g$ 10 Minuten gewaschen.

Nach erneuter Trypanblaufärbung und Zellzählung wurde die gewünschte Konzentration eingestellt.

Zur Bestimmung der radioaktiven Einbaurrate von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in die Zellen wurden entweder $3 \times 100 \mu\text{l}$ bzw. $3 \times 200 \mu\text{l}$ Zellsuspension entnommen, dreifach in Mikrotitrationsplatten übergeführt und direkt geerntet.

2.17. Kultivierung

Kulturen von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuszellen ($3,0\text{--}6,5 \times 10^7$ Lymphozyten/10 ml Medium 2) wurden im Brutschrank bei 39°C , 5% CO_2 , 90% relativer Luftfeuchtigkeit in Falcon Gewebekulturflaschen über einen Zeitraum von 24 Stunden kultiviert.

Alle 4 Stunden wurden die lebenden Zellen, nach Resuspendierung, mit Trypanblau in der Neubauerkammer gezählt; es wurden entweder $3 \times 100 \mu\text{l}$ bzw. $3 \times 200 \mu\text{l}$ der Zellsuspension entnommen, in die Mikrotitrationsplatten übergeführt und direkt geerntet.

2.18. Messung der Radioaktivität

2.18.1. Ernten von Zellsuspensionen

Die Ernte der Zellen aus den Mikrotitrationsplatten erfolgte mit einem Titertek Cell Harvester über Glasfilterpapier. Nach Trocknung der Filterplättchen im Trockenschrank wurden sie mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit in Kunststoffzählfläschchen gegeben und kurz aufgeschüttelt.

Der radioaktive Einbau von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in die Zellen wurde im Packard Tri-Carb Flüssig-Szintillationsspektrometer gemessen und in counts per minute (cpm) angegeben.

2.18.2. Verbrennung

a. Zellsuspensionen

Proben à $500 \mu\text{l}$ Zellsuspension wurden unter Zusatz von Combustaid im Oxidizor verbrannt.

b. Gewebsproben

Gewebsproben von Milz, Thymus, Leber, Lunge, Niere, Dünndarm, Dickdarm, Zaekaltonsille, Muskulatur und Blutkuchen wurden gewogen (0,1-2,0 g), in ca. 100-200 mg schwere Proben aufgeteilt, Serumproben à 400 μ l unter Zusatz von Combustaid, einzeln im Oxidizor verbrannt.

Die Ermittlung der Radioaktivität erfolgte wie oben im Szintillationszähler. Die im Gewebe befindliche Radioaktivität wurde als % injizierter cpm/g Gewebe ausgedrückt.

Die Empfängertiere von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten wurden 24 Stunden nach der Zellübertragung entblutet. Entnommene Gewebsproben wurden im Oxidizor verbrannt bzw. die unter der bei 2.14 beschriebenen Methode präparierten Milzzellsuspensionen wurden zur Bestimmung der in der Milz befindlichen lymphozytären Radioaktivität direkt geerntet bzw. verbrannt.

2.19. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach SACHS (126). Der Wilcoxon-Test für Paardifferenzen wurde zum Vergleich zweier abhängiger Stichproben bzw. der U-Test von WILCOXON, MANN und WHITNEY zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben verwendet.

3. ERGEBNISSE

3.1. In vitro Studien über $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Markierung in Lymphozyten

Zur Feststellung möglicher Differenzen bezüglich der Inkorporation bzw. Umsatzrate von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in Milz- bzw. Thymuszellen von Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern wurde nach 3stündiger Vorinkubation mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin ein Kulturansatz über einen Zeitraum von 24 Stunden angesetzt.

Milz bzw. Thymuszellsuspensionen werden wie unter der bei 2.14 beschriebenen Methode präpariert. Angaben bezüglich der radioaktiven Markierung mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin und Kultivierung der Lymphozyten sind unter 2.16 bzw. 2.17 zu entnehmen.

3.1.1. Vergleichende Untersuchung der Inkorporation von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten in vitro nach 3 Stunden Inkubation bei Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern (Tabelle A)

Die in der Tabelle A zusammengefaßten Daten bezüglich der vergleichenden radioaktiven Markierung mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin von Milz- bzw. Thymuszellen lassen eine Differenzierung der lymphoiden Populationen erkennen. Eine Defizienz der $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Inkorporation in Milzzellen ist einer bevorzugten bzw. selektiven Markierung der Thymuszellen gegenüberzustellen. Milz- oder Thymuslymphozyten von Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern unterscheiden sich bezüglich ihrer $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Inkorporation nur geringfügig.

Tabelle A: Vergleichende $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Markierung von Milz- bzw. Thymuslymphozyten in vitro nach 3 Stunden Inkubation bei Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern

Zellart	$6\text{-}^3\text{H}$ Uridin Inkorporation cpm / 10^7 Lymphozyten
MILZZELLEN normogamma-globulinämischer Tiere	12178 ± 1615
MILZZELLEN dysgamma-globulinämischer Tiere	14804 ± 227
THYMUSZELLEN normogamma-globulinämischer Tiere	22373 ± 1363
THYMUSZELLEN dysgamma-globulinämischer Tiere	22383 ± 1586
THYMUSZELLEN von Non-B19-Kontrolltieren	23928 ± 2026

Alter der Tiere: 12-15 Wochen

Anzahl der Tiere: s. tabellarischer Anhang

$6\text{-}^3\text{H}$ Uridin, spezifische Aktivität $22,6 \text{ Ci/mmol}$,
 $1 \mu\text{Ci}/10^7$ Lymphozyten, Inkubation 3 Stunden bei
 39°C , 5% CO_2 und 90% rel. Luftfeuchtigkeit

Die Abbildungen 1 und 2 zeigen die Verläufe der inkorporierten Radioaktivität ($\text{cpm}/10^6$ kultivierte Zellen) und der relativen Metabolismusrate (% Ausgangsaktivität/ 10^6 kultivierte Zellen) von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten in vitro über 24 Stunden bei Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern.

Mittelwerte und Standardabweichungen sowie die Anzahl der Tiere können dem tabellarischen Anhang entnommen werden.

3.1.2. Vergleichende Verlaufsuntersuchung der inkorporierten Radioaktivität von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten während einer 24 Stunden dauernden Kultivierung bei Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern (Abb.1)

Die Menge an eingebautem $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in die Lymphozyten nimmt über einen Zeitraum von 24 Stunden mit unterschiedlichem Grad kontinuierlich ab. Die Aktivitätsabnahme in Milzzellen normo- und dysgammaglobulinämischer Tiere einerseits bzw. in Thymuszellen normo- und dysgammaglobulinämischer Tiere andererseits verhalten sich einheitlich. Der entsprechende Verlauf in Thymuszellen von Kontrolltieren liegt zu den letzteren nahezu parallel nach oben verschoben.

3.1.3. Vergleichende Verlaufsuntersuchung der relativen Metabolismusrate von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten in vitro über 24 Stunden bei Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern (Abb.2)

Die Menge der eingebauten Radioaktivität von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in die Lymphozyten nach 3 Stunden Vorinkubation wird als 100%-Wert festgesetzt.

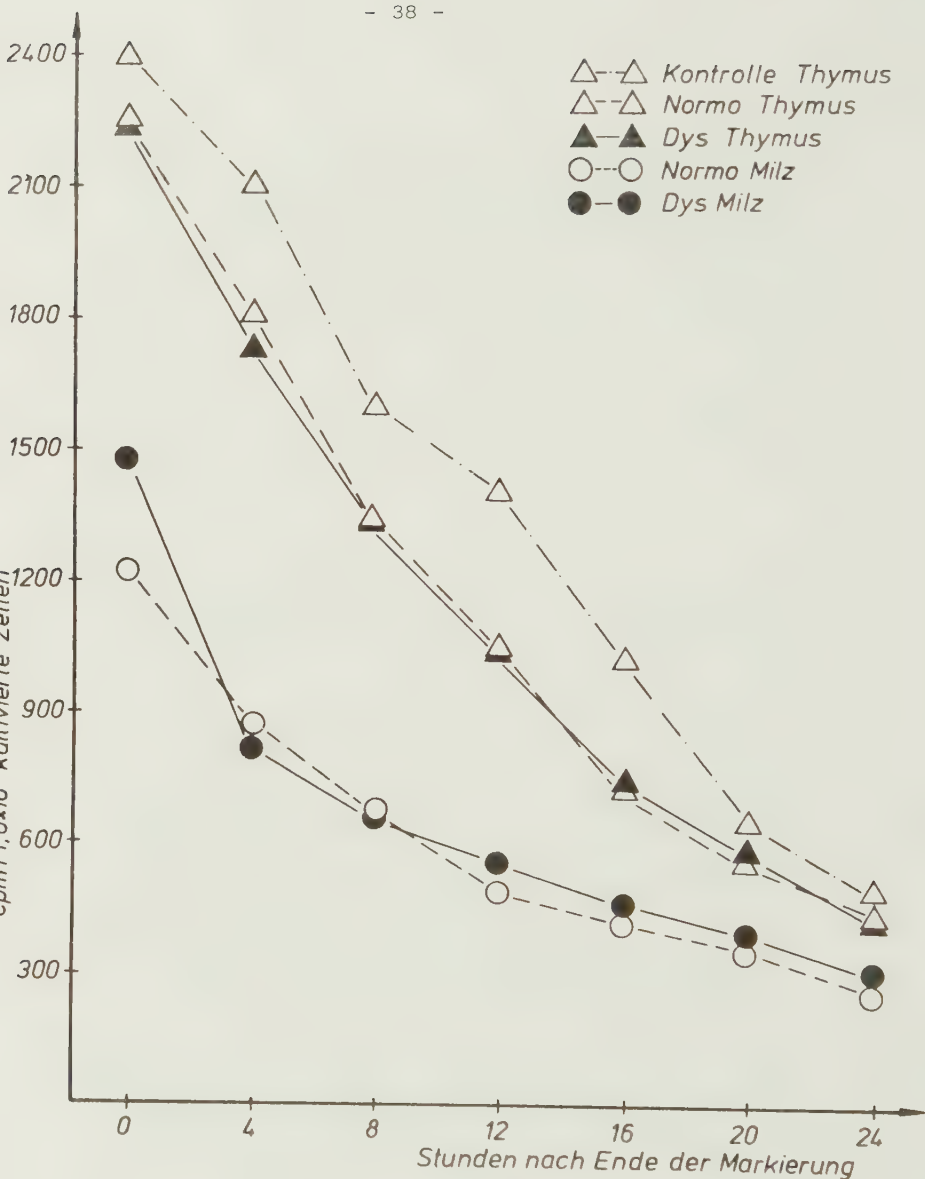


Abb.1: Abnahme der inkorporierten Radioaktivität (cpm/10⁶ kultivierte Zellen) von 6-³H Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten in vitro über 24 Stunden bei Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern. 6-³H Uridin, spez. Aktivität 22,6 Ci/mmol, 1 μ Ci/10⁷ Zellen, Inkubation 3 Stunden bei 39°C, 5% CO₂ und 90% rel. Luftfeuchtigkeit

Die anfängliche Divergenz der einzelnen Verläufe veranschaulicht unterschiedliche Turnoverraten des inkorporierten $6\text{-}^3\text{H}$ Uridins in Milz- bzw. Thymuszellen von Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern. Somit lassen sich unterschiedliche Zeitpunkte feststellen, bei denen 50% des zum Kulturbeginn inkorporierten $6\text{-}^3\text{H}$ Uridins nicht mehr in den Lymphozyten nachgewiesen werden können. Der 50%-Wert beträgt bei Milzzellen dysgammaglobulinämischer Tiere ca. 6 Stunden, bei Milzzellen normogammaglobulinämischer Tiere ca. 9 Stunden, bei Thymuszellen dys- und normogammaglobulinämischer Tiere ca. 11 Stunden und bei Thymuszellen von Kontrolltieren ca. 14 Stunden. Milzzellen zeigen eine raschere Elutionsrate von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin als Thymuszellen. Milzzellen dysgammaglobulinämischer Tiere weisen einen höheren Metabolismus als Milzzellen normogammaglobulinämischer Tiere auf, wogegen sich Thymuszellen normo- und dysgammaglobulinämischer Tiere nur unwesentlich unterscheiden. Thymuszellen von Kontrolltieren zeigen eine noch langsamere Elution als Thymuszellen normo- und dysgammaglobulinämischer Tiere.

12 Stunden nach Kulturbeginn nähern sich die einzelnen Verläufe einander. Nach 24 Stunden weisen alle Lymphozyten 19,6-22,2 % der Ausgangsaktivität auf. Der prozentuale Anteil der nach 24stündiger Kultivierung verbleibenden intrazellulären Radioaktivität kann folglich als nahezu identisch betrachtet werden.

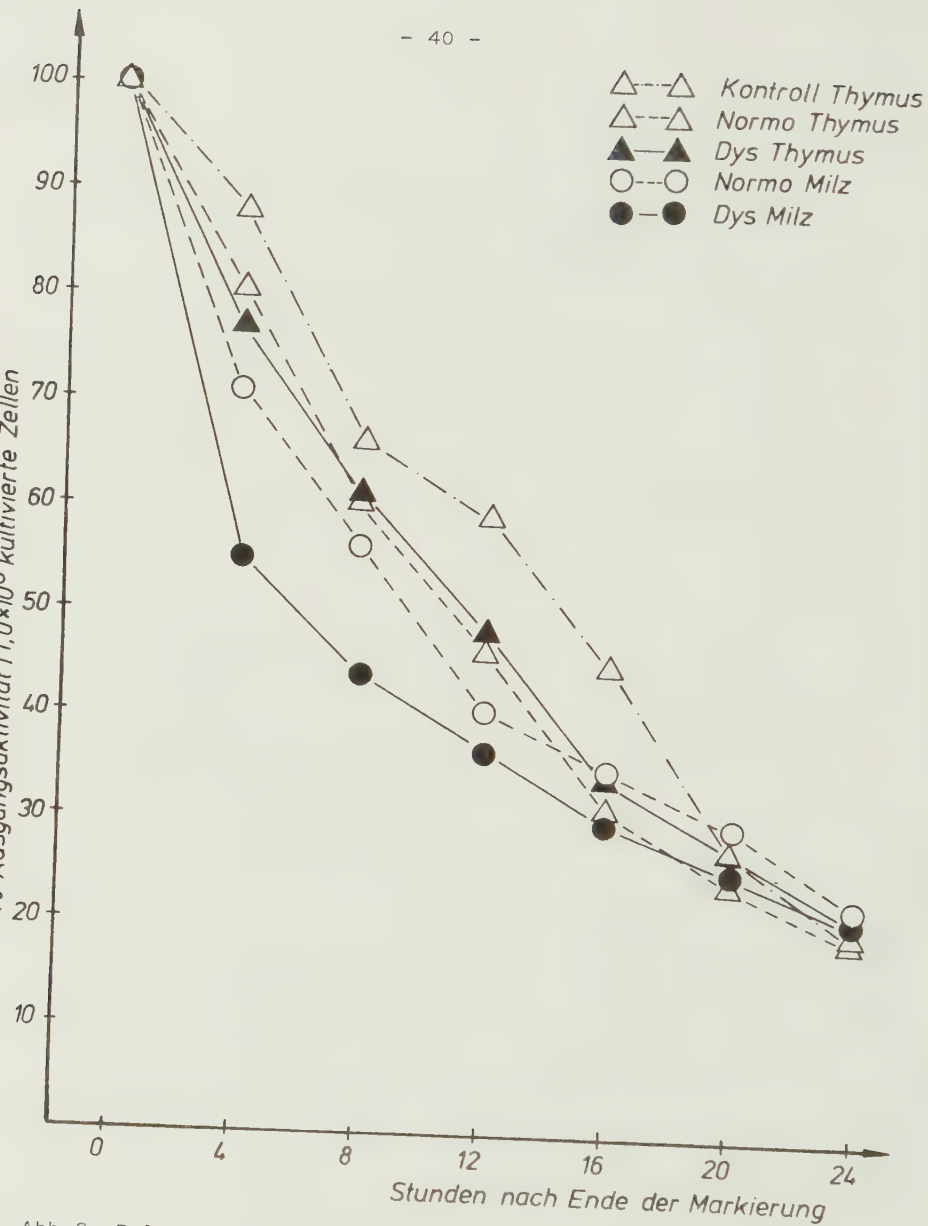


Abb.2: Relative Metabolismusrate (% Ausgangsaktivität/ 10^6 kultivierte Zellen) von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten in vitro über 24 Stunden bei Kontroll-, normo- und dysgammaglobulinämischen Hühnern. $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin, spez. Aktivität 22,6 Ci/mmol, $1\text{ }\mu\text{Ci}/10^7$ Zellen, Inkubation 3 Stunden bei 39°C , 5% CO_2 und 90% rel. Luftfeuchtigkeit

3.2. Migrationsversuche in Gewebekompartimente

Die in diesem Versuchsabschnitt durchgeführten Experimente dienten der Untersuchung der physiologischen Migration von Übertragenen Lymphozyten aus der Blutbahn in die verschiedenen Gewebekompartimente der Empfängertiere.

Hierzu wurden $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierte B- und T-Zellen der Milz bzw. Thymuslymphozyten normogammaglobulinämischer Spendertiere intravenös in a) unbestrahlte, b) 24 Stunden zuvor milzbestrahlte normogammaglobulinämische bzw. c) thymusbestrahlte dysgammaglobulinämische Empfängertiere injiziert. 24 Stunden nach Zelltransfer wurden die Empfängertiere entblutet und Proben zur Ermittlung der im Gewebe befindlichen Radioaktivität entnommen.

Angaben bezüglich der Bestrahlung der Empfängertiere, der Präparation von Spender-Milz- und Thymuszellsuspensionen und der radioaktiven Markierung der Lymphozyten mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin sind unter 2.12, 2.14, bzw. 2.16 zu entnehmen. Die Messung der Gewebsradioaktivität erfolgte auf die bei 2.18.2.b (Verbrennung von Gewebeproben im Oxidizor) beschriebenen Weise.

Die Tabellen B, C und D zeigen die vergleichende Gegenüberstellung der Radioaktivitätsverteilung im Gewebe 24 Stunden nach intravenösem Transfer von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Spender-Milz- bzw. Thymuslymphozyten in a) unbestrahlte, b) 48 Stunden zuvor milz- bzw. c) thymusbestrahlte Empfängertiere.

Es werden in den Tabellen jeweils angegeben: % injizierter Radioaktivität/g Gewebe, Einzelwerte, Mittelwerte $\bar{x}$, Standardabweichungen, Alter und Anzahl der Tiere.

Die in den Tabellen C und D mit * gezeichnet fehlenden Angaben sind dem Versuchsteil 3.3 zu entnehmen. Auf Grund der unterschiedlichen Bestimmungsmethoden der in der Milz befindlichen Gesamt- bzw. lymphozytären Radioaktivität können die Daten nicht miteinander verglichen werden.

3.2.1. Verteilung der Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spendermilzzellen in unbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere (Tabelle B)

Die in der Tabelle B dargestellten Daten lassen keine spezifische Lokalisation von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in einem bestimmten Gewebe erkennen. Die in den lymphoiden Organen Thymus und Zäkaltonsille festgestellten Radioaktivitätsmengen liegen niedriger als die der Leber und unterscheiden sich nur unwesentlich von den Messungen in Niere und Jejunum. In Lunge und Colon werden noch niedrigere Meßwerte beobachtet.

3.2.2. Verteilung der Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spendermilzzellen in 48 Stunden zuvor milzbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere (Tabelle C)

Nach Betrachtung der in der Tabelle C aufgeführten Ergebnisse läßt sich die höchste Radioaktivitätsmenge in der bestrahlten Empfängermilz nach Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milzlymphozyten feststellen. Die lymphoiden Organe Thymus und Zäkaltonsille weisen niedrigere Radioaktivitätsquantitäten als die nicht-lymphoiden Organe Leber und Niere auf. Die Zäkaltonsillen zeigen geringfügig höhere Meßwerte als Jejunum und Colon.

Tabelle B: Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $4,0 \times 10^8$ ^3H Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spendermilzzellen in unbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere

Empfänger	injiz. Radioaktiv. (cpm)	% injizierter Radioaktivität/g Gewebe										
		Milz	Thymus	Zäkaltons.	Leber	Lunge	Niere	Serum	Blutkuchen	Muskel	Jejunum	Colon
2469 15W ♂	716554	*	0,49	0,60	1,05	0,42	0,64	0,09	0,14	0,19	0,62	0,25
2492 15W ♂	513027	*	1,01	0,76	1,34	0,35	0,81	0,12	0,15	0,20	0,85	0,40
$\bar{x}$			0,75	0,68	1,19	0,38	0,72	0,10	0,14	0,19	0,73	0,32
s			$\pm 0,37$	$\pm 0,11$	$\pm 0,20$	$\pm 0,05$	$\pm 0,12$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,16$	$\pm 0,11$

Spender: Alter 15 Wochen, σ

* siehe Versuch 3.3 und Anmerkung Seite 42 oben

^3H Uridin, spezifische Aktivität $22,6 \text{ Ci/mmol}$, $1,0 \mu\text{Ci}/10^7$ Lymphozyten, Inkubation 3 Stunden bei 39°C , 5% CO_2 und 90% relativer Luftfeuchtigkeit

Tabelle C: Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $4,0^{1)}-5,1^{2)} \times 10^8$ $6-^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spendermilzzellen in 48 Stunden zuvor 500 cGy milzbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere

Empfänger	injiz. Radio- aktiv. (cpm)	% injizierter Radioaktivität/g Gewebe										
		Milz	Thymus	Zäkal- tons.	Leber	Lunge	Niere	Serum	Blut- kuchen	Muskel	Jeju- num	Colon
25840 18M ♀ 2)	779615	4,52	---	0,69	2,77	0,57	1,34	0,20	0,26	0,34	0,52	1,11
25861 18M ♀ 2)	757155	4,32	---	0,90	2,81	0,55	1,08	0,15	0,18	0,36	0,44	0,60
2465 15W ♂ 1)	513027	*	0,76	1,05	1,34	0,31	1,14	0,15	0,20	0,24	1,07	0,69
2466 15W ♂ 1)	716554	*	0,55	0,73	1,59	0,66	0,50	0,09	0,14	0,10	0,75	0,26
$\bar{x}$		4,42	0,65	0,84	2,13	0,52	1,01	0,15	0,19	0,26	0,69	0,66
s		$\pm 0,14$	$\pm 0,15$	$\pm 0,17$	$\pm 0,77$	$\pm 0,15$	$\pm 0,36$	$\pm 0,04$	$\pm 0,05$	$\pm 0,12$	$\pm 0,28$	$\pm 0,35$

Spender: Alter 15 Wochen ¹⁾ ♂, bzw. 12 Wochen ²⁾ ♀

* siehe Versuch 3.3. und Anmerkung Seite 42 oben

$6-^3\text{H}$ Uridin, spezifische Aktivität $22,6 \text{ Ci/mmol}$, $1,0 \mu\text{Ci}/10^7$ Lymphozyten, Inkubation 3 Stunden bei 39°C , 5% CO_2 und 90% relativer Luftfeuchtigkeit

3.2.3. Verteilung der Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Spenderthymuszellen in 48 Stunden zuvor thymusbestrahlte dysgammaglobulinämische Empfängertiere (Tabelle D)

Die Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Thymuslymphozyten führt nach den festgestellten Daten (Tabelle D) nicht zur selektiven Lokalisation an Radioaktivität in dem bestrahlten Empfängerorgan Thymus. Die Thymusmeßwerte liegen nicht höher als vergleichbare Messungen in nahezu gleichaltrigen Tieren nach Übertragung von Milzlymphozyten in milzbestrahlte Empfänger (s. Tabellen B und C). Niere und Colon weisen geringfügig höhere Werte als der Thymus auf.

Hohe Radioaktivitätsmengen werden dagegen in der unbestrahlten Milz und in der Leber nachgewiesen. Die Zäkaltonsille zeigt ca. 2fach höhere Radioaktivitätsanteile (ca. 1,61 % injizierter Radioaktivität/g) im Vergleich zu Meßwerten, die nach Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milzlymphozyten festgestellt werden (ca. 0,68-0,84 %, s. Tabellen B und C).

Tabelle D: Gewebsradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $5,1 \times 10^8$ $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Sponderthymuszellen in 48 Stunden zuvor 500 cGy thymusbestrahlte dysgammaglobulinämische Empfängertiere

Empfänger	injiz. Radioaktiv. (cpm)	% injizierter Radioaktivität/g Gewebe										
		Milz	Thymus	Zäkalt. tons.	Leber	Lunge	Niere	Serum	Blutkuchen	Muskel	Jejunum	Colon
2391 12W ♀	990030	3,18	0,62	1,98	3,08	1,08	1,37	0,25	0,31	0,39	0,46	0,92
2392 12W ♀	1111231	2,93	0,71	1,24	2,94	0,61	1,08	0,13	0,20	0,28	0,35	0,72
$\bar{x}$		3,06	0,67	1,61	3,01	0,84	1,22	0,19	0,26	0,34	0,41	0,82
s		$\pm 0,18$	$\pm 0,06$	$\pm 0,52$	$\pm 0,10$	$\pm 0,33$	$\pm 0,22$	$\pm 0,09$	$\pm 0,08$	$\pm 0,08$	$\pm 0,08$	$\pm 0,14$

Spender: Alter 12 Wochen, ♀

$6\text{-}^3\text{H}$ Uridin, spezifische Aktivität $22,6 \text{ Ci/mmol}$, $1,0 \mu\text{Ci}/10^7$ Lymphozyten, Inkubation 3 Stunden bei 39°C , 5% CO_2 und 90% relativer Luftfeuchtigkeit

Zusammenfassend können folgende Erkenntnisse dargestellt werden:

Nach Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten werden die höchsten Radioaktivitätsmengen sowohl in der unbestrahlten als auch in der bestrahlten Empfänger milz gemessen.

Als Ort der Katabolisierung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin zeigt die Leber einen hohen Anteil der im Empfängertier nachgewiesenen Radioaktivität.

In der Zäkaltonsille werden höhere Radioaktivitätsmengen nach Übertragung von Thymuslymphozyten als nach Transfer von Milzlymphozyten festgestellt.

Radioaktivitätsmessungen im Blutkuchen bzw. Serum deuten auf das Vorkommen von zellgebundenem bzw. aus den Zellen ausgeschiedenem $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin hin.

Die im Muskelgewebe nachgewiesene Radioaktivität weist auf eine generelle Verteilung des aus den markierten Lymphozyten eluierten Radioisotops im Körper hin.

Eine präzise Differenzierung zwischen zellgebundenem und interstitiellem $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin ist mit dieser Bestimmungsmethode nicht möglich.

3.3. Auswirkung der Bestrahlung auf die Aufnahmefähigkeit der Empfänger milz

Nach Betrachtung der im Versuchsteil 3.2 beschriebenen Ergebnisse stellte sich die Frage, ob die fokussierte Milzbestrahlung eines Empfängertieres 24 Stunden vor der Zellübertragung die Lokalisation der transferierten $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milzlymphozyten in der Empfänger milz begünstigt.

Hierzu wurden Aliquots von jeweils $4,0 \times 10^8$ $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milzlymphozyten eines normogammaglobulinämischen Spendertieres intravenös in ein unbestrahltes und ein 24 Stunden zuvor milzbestrahltes normogammaglobulinämisches Empfängertier übertragen.

Angaben bezüglich der Bestrahlung der Empfängertiere, der Präparation der Spender-Milzzellsuspensionen und der radioaktiven Markierung der Lymphozyten sind unter 2.12, 2.14, bzw. 2.16 zu entnehmen.

24 Stunden nach der Zellübertragung wurden die Empfängertiere entblutet und die Milzen entnommen.

Die Verbrennung von Gewebeproben im Oxidizor (2.18.2.b) ermöglicht die Ermittlung der im Gesamtmilzgewebe lokalisierten Radioaktivität (siehe Versuch 3.2). Die Radioaktivität wird durch zellgebundenes und von den Zellen eluiertes interstitielles $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin hervorgerufen.

Zur Bestimmung der in den Empfänger milzen befindlichen zellulären (lymphozytären) Radioaktivität wurden Milzszellsuspensionen durch die bei 2.14 beschriebene Methode präpariert. Die Messung der zellulären Radioaktivität erfolgte sowohl auf der bei 2.18.1 (Zellernte) als auch auf der bei 2.18.2.a (Verbrennung von Zellsuspensionen im Oxidizor) dargestellten Weise.

3.3.1. Allgemeine Angaben zu den normogammaglobulinämischen Spender- und Empfängertieren (Tabelle E)

Die in der Tabelle E dargestellten Angaben beinhalten Vorbehandlung, Körpergewicht (g), Milzgewicht (g) und Zahl der aus der Milz isolierten Lymphozyten.

Milzgewichte und Anzahl der Milzlymphozyten 48 Stunden nach 500 cGy fokussierter Milzbestrahlung sind gegenüber den unbestrahlten Tieren stark verringert.

3.3.2. Vergleichende Darstellung der in der Milz nachgewiesenen Radioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Milzlymphozyten in unbestrahlte bzw. 48 Stunden zuvor milzbestrahlte normogammaglobulinämische Empfängertiere (Tabelle F)

Die in der Tabelle F zusammengefaßten Daten bezüglich der in den Empfängerhilzen gemessenen zellulären (lymphozytären) Radioaktivität werden ausgedrückt als: Gesamtradioaktivität Milz (cpm), % injizierter Radioaktivität/Milz, % injizierter Radioaktivität/g Milzgewebe und % injizierter Radioaktivität/ 10^9 aus der Milz isolierter Lymphozyten.

Nahezu identische Radioaktivitätsausbeuten werden durch die zur Messung des in der Milz befindlichen $6\text{-}^3\text{H}$ Uridins angewandten Bestimmungsmethoden festgestellt (Zellernte bzw. Verbrennung der Zellsuspensionen im Oxidizor).

Dagegen lassen sich unterschiedliche Lokalisationsintensitäten der transferierten $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milzlymphozyten in den Hilzen unbestrahlter bzw. milzbestrahlter Empfänger erkennen.

Tabelle E: Allgemeine Angaben zu den normogammaglobulinämischen Spender- und Empfängertieren

Tier No. 1)	Im Versuch	Vorbehandlung	KG g	Milzgewicht g	Zahl der aus der Milz isoliert. Lymphozyten
2457	Spender	---	2000	4,60	$2,94 \times 10^9$
2466	Empfänger	500 cGy Milz- bestrahlung 2)	1600	1,65 3)	$1,31 \times 10^9$ 3)
2469	Empfänger	---	1540	4,25 4)	$6,00 \times 10^9$ 4)
2459	Spender	---	1750	4,60	$2,64 \times 10^9$
2465	Empfänger	500 cGy Milz- bestrahlung 2)	1460	1,75 3)	$1,31 \times 10^9$ 3)
2492	Empfänger	---	1450	2,80 4)	$4,00 \times 10^9$ 4)

1) männlich, 15 Wochen alt, 2) 24 Stunden vor Zellübertragung, 3) 48 Stunden nach Bestrahlung bzw. 24 Stunden nach Zellübertragung, 4) 24 Stunden nach Zellübertragung

Bei Betrachtung der Angaben Gesamtradioaktivität/Milz bzw. % injizierter Radioaktivität/Milz zeigt sich, daß unbestrahlte Empfängertiere höhere lymphozytäre Radioaktivitätsmengen als vergleichbare bestrahlte Tiere 24 Stunden nach Zellübertragung aufweisen. Die fokussierte Milzbestrahlung 24 Stunden vor der Zellübertragung scheint offensichtlich keine verstärkte Lokalisation der transferierten Zellen in der Milz des Empfängers hervorzurufen.

Im Gegensatz zu den obigen Ausführungen werden mit der Angabe % injizierter Radioaktivität/g Milzgewebe höhere lymphozytäre Radioaktivitätsmengen in den bestrahlten im Vergleich zu den unbestrahlten Milzen nachgewiesen.

Die strahleninduzierte Wirkung läßt sich mit der Angabe % injizierter Radioaktivität/ 10^9 aus der Milz isolierter Lymphozyten noch präziser veranschaulichen. Es zeigt sich ein bis zu 4fach höherer prozentualer Anteil an injizierter Radioaktivität in den Milzen bestrahlter Tiere. Die durch die Bestrahlung bedingte Depletion der Lymphozytenpopulationen in der Milz führt zu einer starken Erhöhung des prozentualen Anteils der sich in den Empfänger milzen lokalisierenden $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Spendermilzlymphozyten bezogen auf die Gesamtlymphozytenzahl der Milz.

In dem bei 3.1 dargestellten Kulturansatz konnte festgestellt werden, daß $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierte Lymphozyten 24 Stunden nach Ende der Markierung noch ca. 20% der Ausgangsaktivität aufweisen. Somit kann eine Lokalisation von ca. $1,5\text{-}3,5 \times 10^7$ der $4,0 \times 10^8$ transferierten Milzlymphozyten in der Empfänger milz 24 Stunden nach Zellübertragung errechnet werden. Die Anzahl der in den Empfänger milzen nachgewiesenen Spenderlymphozyten unterscheidet sich bei unbestrahlten bzw. milzbestrahlten Tieren 24 Stunden nach Zellübertragung nur unwesentlich.

Tabelle F: Milzradioaktivität 24 Stunden nach intravenöser Übertragung von $4,0 \times 10^8$ $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten normogammaglobulinämischen Milzlymphozyten in unbestrahlte bzw. 48 Stunden zuvor 500 cGy milzbestrahlte normogammaglobulinämische Empfänger Tiere

Spender Tier No.	Empfänger Tier No.	Injizierte Radioakti- vität cpm	Gesamtradio- aktivität Milz cpm Ernten ⁴⁾ Oxidiz. ⁵⁾	% injiz. Radio- aktivität/ Milz Ernten Oxidiz.	% injiz. Radio- aktivität/g Milzgewebe Ernten Oxidiz.	% injiz. Radio- aktiv./ 10^9 isol. Milzlymphozyten Ernten Oxidiz.
2457	2466 ¹⁾	716554	11551 11670	1,61 1,63	0,98 0,99	1,23 1,24
	2469 ²⁾	716554	13288 13130	1,85 1,83	0,44 0,43	0,31 0,31
2459	2465 ¹⁾	513027	4405 4376	0,86 0,85	0,49 0,49	0,66 0,65
	2492 ²⁾	513027	5618 5749	1,09 1,12	0,39 0,40	0,27 0,28

1) 500 cGy Milzbestrahlung 24 Stunden vor Zellübertragung, 2) unbestrahlt, die Messung der zellulären Radioaktivität erfolgte sowohl durch Ernten der Zellsuspensionen 4) als auch durch Verbrennung der Zellsuspensionen im Oxidizor 5)

3.4. Zelltransfer in bestrahlte immundefiziente Empfänger-tiere

Dysgammaglobulinämische Empfängertiere erhielten 34 Tage nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA i.m. eine 500 cGy fokussierte Milzbestrahlung. 24 Stunden später wurden $3,0-5,0 \times 10^8$ Milz B- und T- bzw. $1,5-3,0 \times 10^8$ Nylon wool fraktionierte Milz T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer Spendertiere, die 25 Tage vorher mit HSA und FCA i.m. immunisiert wurden, intravenös in die Empfängertiere übertragen. Unmittelbar danach erfolgte die Zweitimmunisierung mit HSA i.m.

Den dysgammaglobulinämischen Empfängertieren wurde Blut unmittelbar vor der Erstimmunisierung (A) und der Bestrahlung (B), sowie am 2., 6., 13., 20., 32. Tag nach der Zellübertragung und Zweitimmunisierung (C) entnommen.

Angaben bezüglich der Bestrahlung der Empfängertiere, der Präparation der Spender-Milzzellsuspensionen und der Nylon wool Fraktionierung von Milzlymphozyten sind unter 2.12, 2.14 bzw. 2.15 zu entnehmen.

Die Abbildungen zeigen den Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter (Gesamt- und ME-resistente Agglutinationstiter), der durch ELISA-ermittelten Anti-HSA-Konzentrationen (Anti-HSA-IgG, IgM, IgA) und der Serumimmunglobulinkonzentrationen (IgG, IgM, IgA).

Mittelwerte und Standardabweichungen sowie Anzahl und Alter der Tiere können dem tabellarischen Anhang entnommen werden.

3.4.1. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serumimmunglobulinkonzentrationen nach Übertragung von $3,0-5,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in 500 cGy milzbestrahlte HSA- und FCA-vorimmunisierte dysgammaglobulinämische Empfängertiere mit HSA-Zweitimmunisierung

3.4.1.1. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter (Abb.3)

34 Tage nach Erstimmunisierung lag ein mittlerer Gesamt-Agglutinationstiter von 12,8 und ein mittlerer ME-resistenter Antikörper-Titer von 0,7 vor. Der ME-resistente Titer ist durch ein Tier bedingt.

Drei Tage nach Bestrahlung, d.h. am 2. Tag nach Zellübertragung und Zweitimmunisierung ist ein starker Abfall des Gesamttiters auf 6,8 und ein Verschwinden ME-resistenter Antikörper feststellbar. Am 6. Tag ist ein deutlicher Anstieg des Gesamttiters um ca. 5 Titerstufen nachweisbar, der am 13., 20., 32. Tag leichte Schwankungen mit abfallender Tendenz aufweist. Der Erstimmunisierungstiter wird jedoch nicht überschritten. Die ME-resistenten Antikörper erreichen ihre höchsten Titer im Verlauf der Zweitantwort am 6. und 13. Tag.

3.4.1.2. Verlauf der ELISA-ermittelten Anti-HSA-Konzentrationen (Abb.4)

Eine sehr geringe Produktion von IgG-Antikörpern ist bei einzelnen Tieren nach Zellübertragung und Zweitimmunisierung noch meßbar (bis zu $3 \mu\text{g/ml}$).

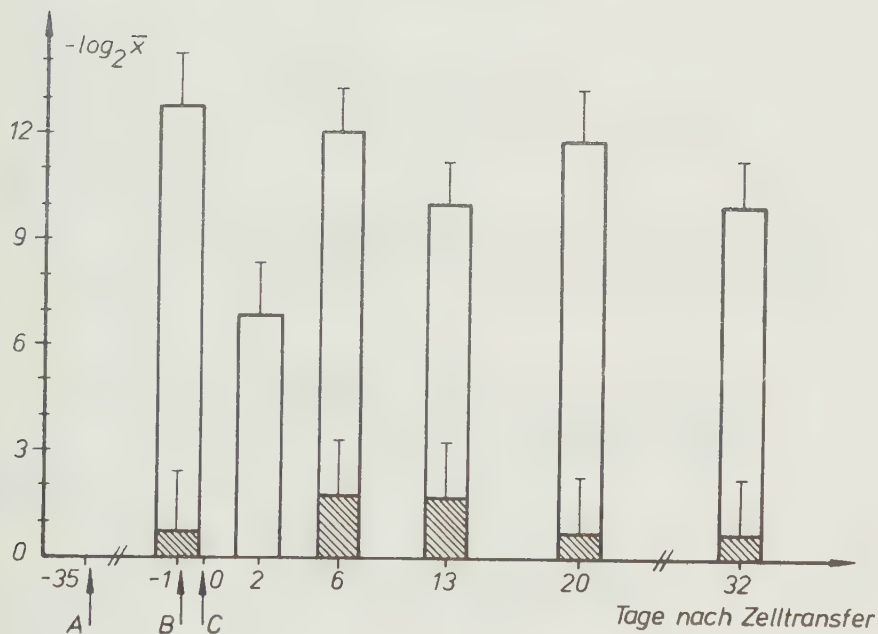


Abb.3: Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log_2 \bar{x}$) dysgammaglobulinämischer Empfängertiere nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA i.m. (A), 500 cGy Milzbestrahlung (B), Transfer von $3,0-5,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere und Zweitimmunisierung der Empfängertiere mit HSA i.m. (C)

Gesamt-titer
 ME-resistente Antikörper

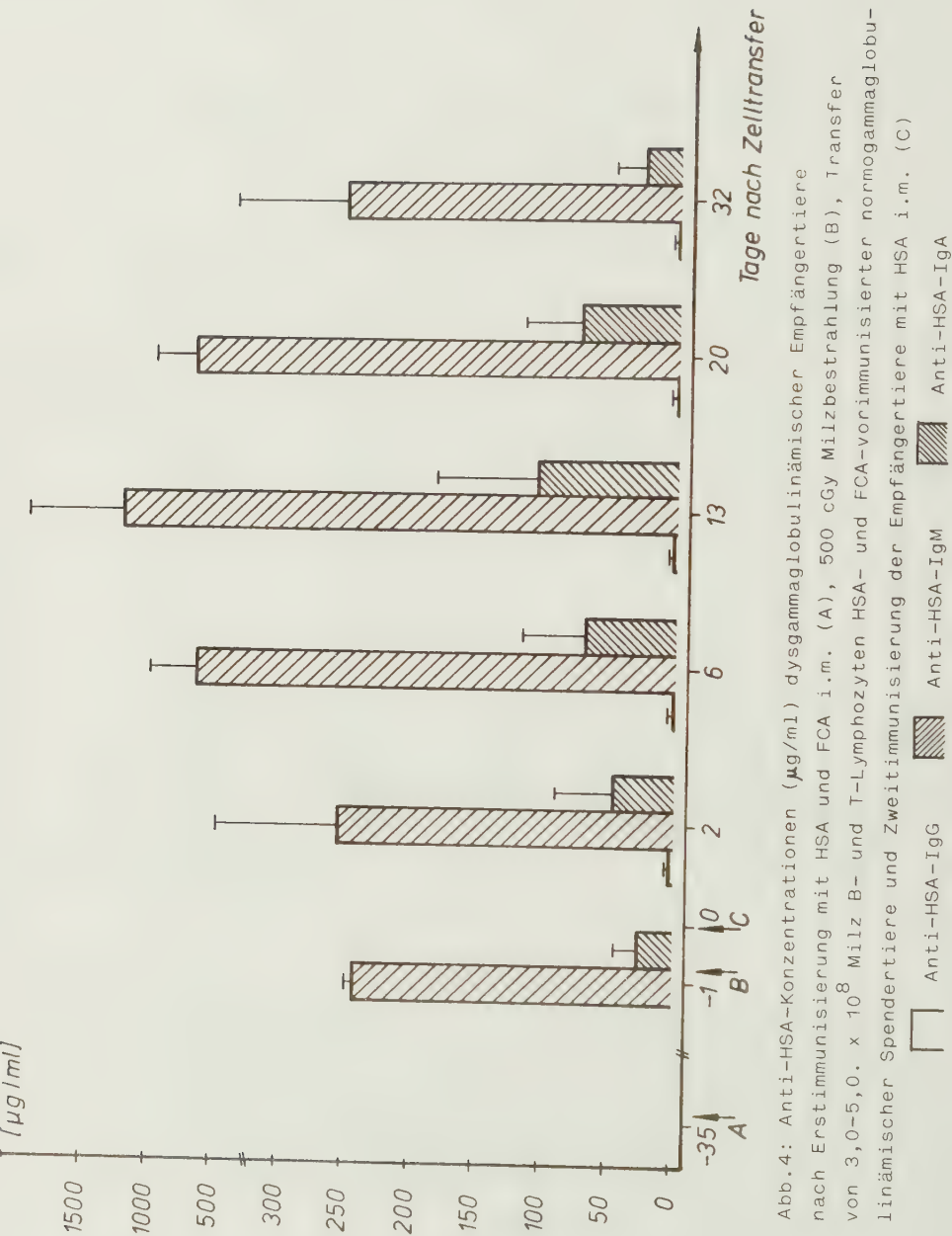


Abb. 4: Anti-HSA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) dysgammaglobulinämischer Empfängertiere nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA i.m. (A), 500 cGy Milzbestrahlung (B), Transfer von $3,0-5,0 \cdot 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierten normogammaglobulinämischer Spendertiere und Zweitimmunisierung der Empfängertiere mit HSA i.m. (C)

Im Gegensatz zu den Hämagglutinationstitern der Abb.3 erfahren die IgM- und IgA-Antikörper keine Depression durch die Bestrahlung. Sie steigen kontinuierlich zum 13. Tag nach Zellübertragung und Zweitimmunisierung an, wo sie ihren Höchststand erreichen (4-5fach höherer Wert wie am Tag der Bestrahlung), und fallen dann ab.

3.4.1.3. Verlauf der Serumimmunglobulinkonzentrationen (Abb.5)

34 Tage nach Erstimmunisierung ist ein Anstieg der IgM- und IgA- und ein Absinken der IgG-Konzentrationen feststellbar. Alle Ig-Werte fallen nach der Bestrahlung ab.

Vom 2. Tag nach Zellübertragung und Zweitimmunisierung steigt die IgG-Konzentration schwach und kontinuierlich zum 32. Tag an. Die IgM-Konzentration zeigt bis zum 13. Tag leichte Schwankungen, die IgA-Konzentration steigt dagegen in diesem Zeitraum deutlich an und erreicht wie die IgM-Werte ihren Höchststand am 20. Tag, danach fallen sie erneut ab.

3.4.2. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serumimmunglobulinkonzentrationen nach Übertragung von $1,5-3,0 \times 10^8$ Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in 500 cGy milzbestrahlte HSA- und FCA-vorimmunisierte dysgammaglobulinämische Empfängertiere mit HSA-Zweitimmunisierung

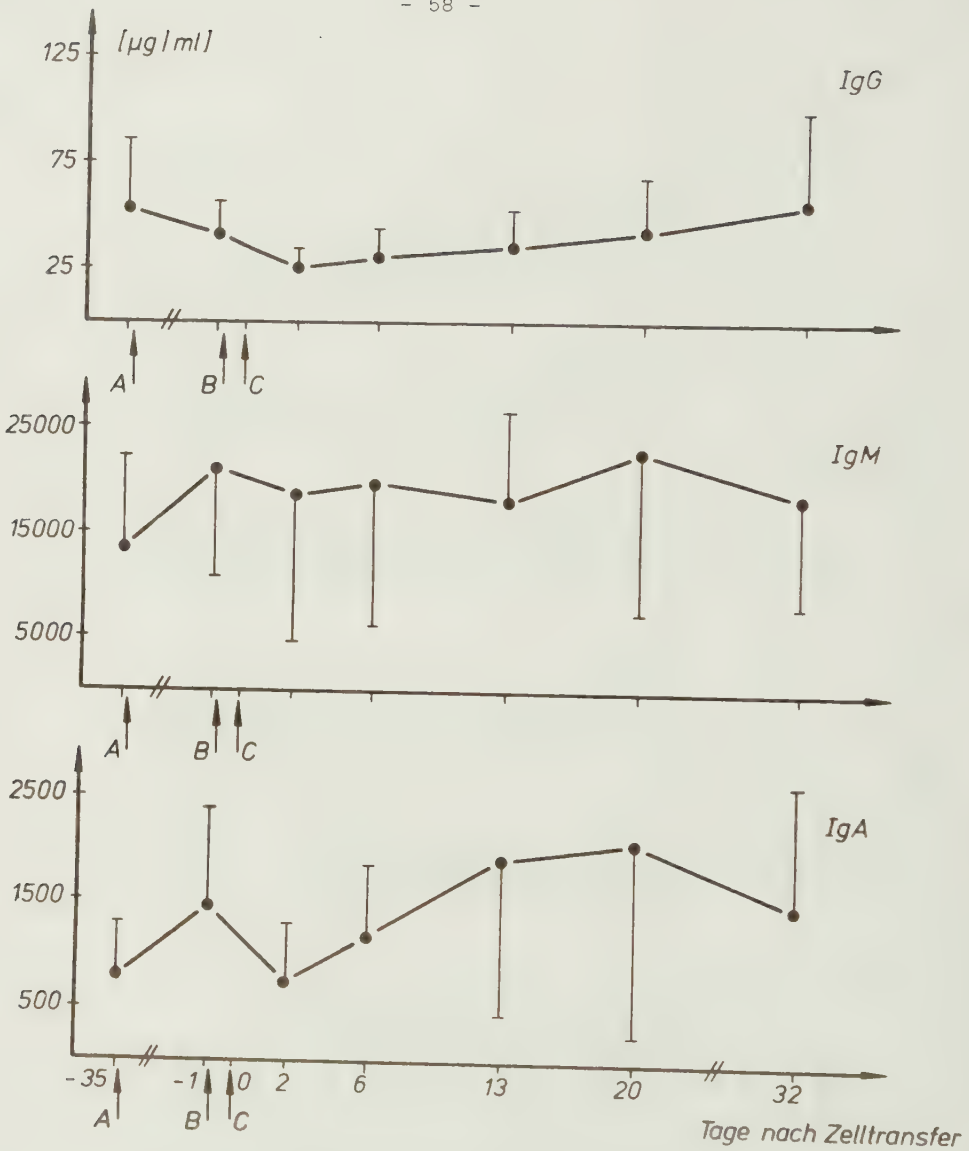


Abb.5: Serumimmunoglobulin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) dysgamma-globulinämischer Empfängertiere nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA i.m. (A), 500 cGy Milzbestrahlung (B), Transfer von $3,0-5,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere und Zweitimmunisierung der Empfängertiere mit HSA i.m. (C)

3.4.2.1. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter (Abb.6)

ME-resistente Antikörper sind weder nach Erst- noch nach Zweitimmunisierung und Zellübertragung nachweisbar.

34 Tage nach Erstimmunisierung ist ein mittlerer Gesamttagglutinationstiter von 8,1 meßbar, der 3 Tage nach Bestrahlung bzw. am 2. Tag nach Zellübertragung und Zweitimmunisierung auf 0,2 abfällt. Nach starkem Anstieg des Gesamttiters um ca. 8 Titerstufen am 6. Tag wird der Höchstwert von 8,6 am 13. Tag erreicht. Danach ist ein leichter Abfall am 20. und 32. Tag feststellbar.

3.4.2.2. Verlauf der ELISA-ermittelten Anti-HSA-Konzentrationen (Abb.7)

Eine sehr geringfügige Produktion von IgG-Antikörpern ist bei einem Tier 34 Tage nach Erstimmunisierung feststellbar ($2 \mu\text{g/ml}$). Ansonsten sind IgG-Antikörper nicht nachweisbar.

Im Gegensatz zu der Gruppe, die Milz B- und T-Lymphozyten übertragen bekam (siehe Abb.4), fallen hier die IgM-Antikörper vom Tag der Bestrahlung bis zum 6. Tag nach Zellübertragung und Zweitimmunisierung kontinuierlich ab. Darauf folgt ein starker Anstieg mit Höchststand am 13. Tag mit anschließendem Absinken bis zum 32. Tag.

Die IgA-Antikörper steigen zunächst leicht bis zum 2.Tag an und erreichen, wie die IgM-Werte, den Tiefstand am 6. Tag und Höchststand am 13. bzw. 20. Tag.

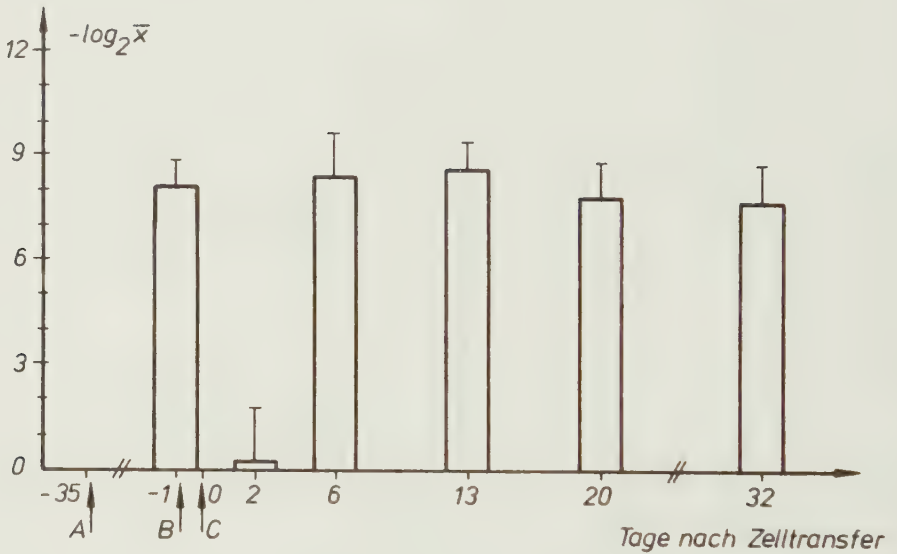


Abb.6: Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log_2 \bar{x}$) dysgamma-globulinämischer Empfängertiere nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA i.m. (A), 500 cGy Milzbestrahlung (B), Transfer von $1,5-3,0 \times 10^8$ Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere und Zweitimmunisierung der Empfängertiere mit HSA i.m. (C)



Gesamtstiter



ME-resistente Antikörper

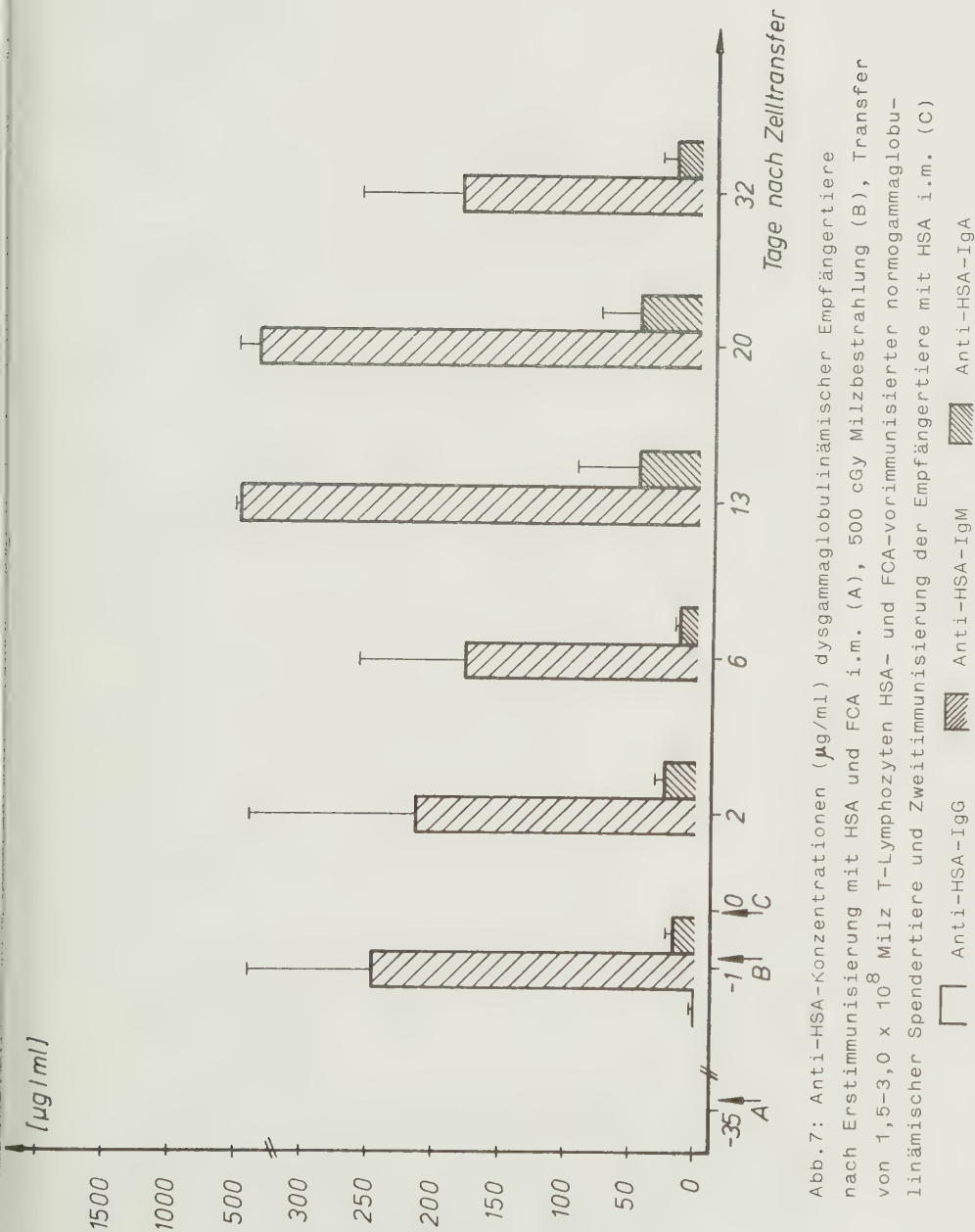


Abb. 7: Anti-HSA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) dysgammaglobulinämischer Empfängertiere nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA i.m. (A), 500 cGy Milzbestrahlung (B), Transfer von $1,5-3,0 \times 10^8$ Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere und Zweitimmunisierung der Empfängertiere mit HSA i.m. (C)

3.4.2.3. Verlauf der Serumimmunglobulinkonzentrationen (Abb.8)

Nach anfänglichem Anstieg der IgM- und IgA- und Abfall der IgG-Konzentrationen vom Versuchsbeginn bis zum Tag der Bestrahlung, fallen alle Ig-Werte nach der Bestrahlung stark ab (wie nach Übertragung von Milz B- und T-Lymphozyten, siehe Abb.5).

Vom 2. Tag nach Zellübertragung und Zweitimmunsierung steigen die IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen leicht an und zeigen im weiteren Verlauf leichte Niveauunterschiede, jedoch im Gegensatz zur Abb.5 mit grundsätzlich abfallender Tendenz.

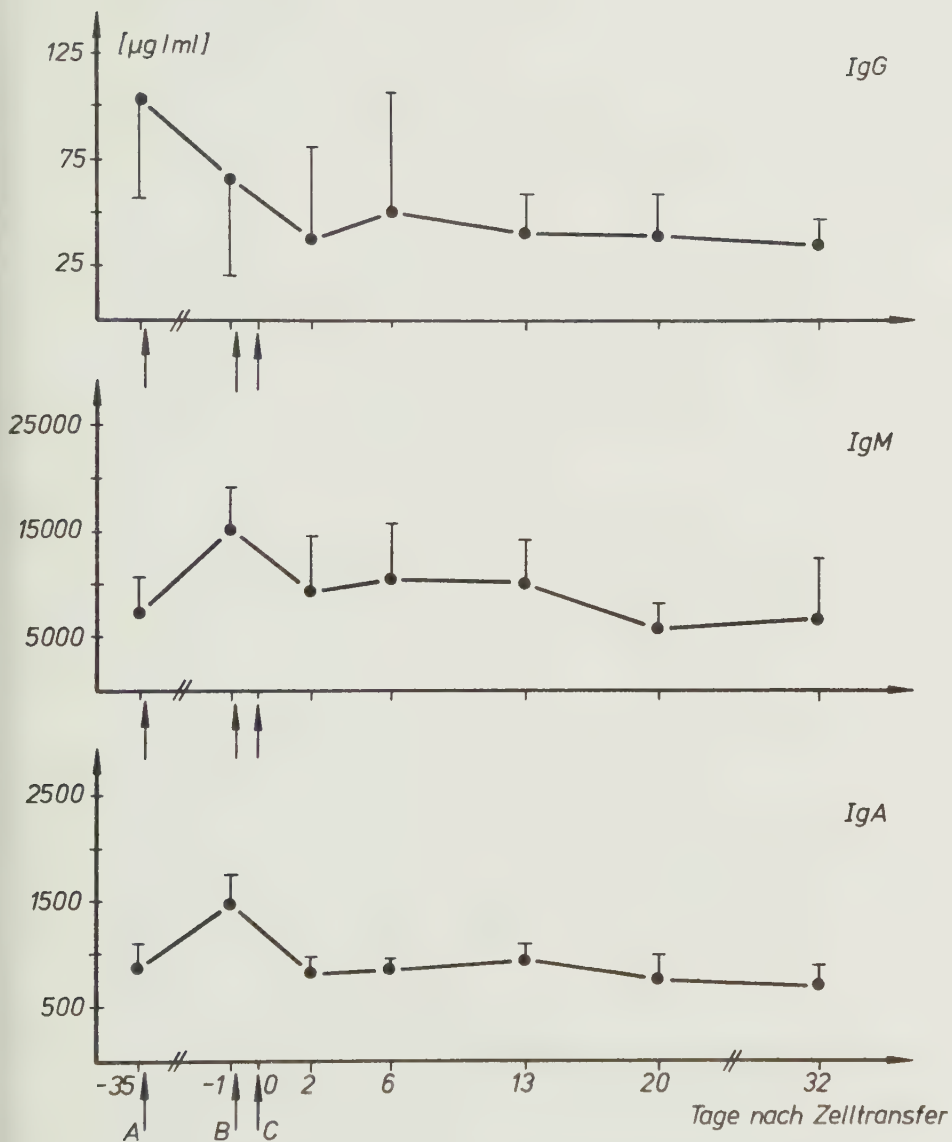


Abb.8: Serumimmunglobulin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) dysgamma-globulinämischer Empfängertiere nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA i.m. (A), 500 cGy Milzbestrahlung (B), Transfer von $1,5-3,0 \times 10^8$ Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere und Zweitimmunisierung der Empfängertiere mit HSA i.m. (C)

3.4.3. Vergleichende Gegenüberstellung der in 3.4.1 bzw. 3.4.2 dargestellten Ergebnisse

Eine Steigerung der Anti-HSA-IgG- bzw. Serum-IgG-Synthese in 24 Stunden zuvor 500 cGy milzbestrahlten HSA- und FCA-vorimmunisierten dysgammaglobulinämischen Empfängertieren kann durch Übertragung von Milz B- und T- bzw. T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere mit dem hier durchgeführten Versuchsansatz nicht erzielt werden.

Die Gesamt-Hämagglutinationstiter fallen 3 Tage nach Bestrahlung, d.h. am 2. Tag nach Zellübertragung und Zweitimmunisierung stark ab. Ein markanter Anstieg ist jedoch bereits am 6. Tag nach Zellübertragung feststellbar (s. Abb.3 und 6).

Die mittels ELISA- gemessenen Anti-HSA-IgM- und IgA-Konzentrationen erfahren nach Übertragung von Milz B- und T-Zellen keine Depression durch die Bestrahlung, im Gegensatz zur Übertragung von Nylon wool fraktionierten Milz T-Zellen (s. Abb.4 und 7).

Nach Transfer von Milz B- und T-Zellen werden höhere Anti-HSA-IgM- und IgA-Konzentrationen gemessen als bei der vergleichbaren Übertragung von Milz T-Zellen (s. Abb.4 und 7).

Die Serum-IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen sinken nach der Bestrahlung ab. Eine anschließende "Regeneration" der Immunglobulinspiegel tritt nur nach Übertragung von Milz B- und T-Zellen ein, nicht dagegen nach Transfer von Milz T-Zellen (s. Abb.5 und 8).

3.5. Zelltransfer in unbestrahlte immundefiziente Empfänger-tiere

Unbestrahlte nicht vorimmunisierte bzw. HSA-vorimmunisierte (s. 3.5.3) dysgammaglobulinämische Empfängertiere erhielten $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spender-tiere. 24 Stunden nach der Zellübertragung erfolgte die Immunisierung der Empfängertiere mit HSA i.m. und nach weiteren 7 Tagen, d.h. 8 Tage nach der Zellübertragung, die Verabreichung von FCA.

Den dysgammaglobulinämischen Empfängertieren wurde Blut unmittelbar vor der Zellübertragung (I), der Immunisierung mit HSA (II) und Verabreichung von FCA (III) sowie am 13., 32. Tag nach der Zellübertragung entnommen.

Angaben bezüglich der Präparation der Spender-Milzzellsuspensionen sind unter 2.14 zu entnehmen.

Die Abbildungen zeigen den Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter (Gesamt- und ME-resistente Agglutinationstiter), der durch ELISA-ermittelten Anti-HSA-Konzentrationen (Anti-HSA-IgG, IgM, IgA) und der Serumimmunglobulinkonzentrationen (IgG, IgM, IgA).

Mittelwerte und Standardabweichungen sowie Anzahl und Alter der Tiere können dem tabellarischen Anhang entnommen werden.

3.5.1. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serumimmunglobulinkonzentrationen nach Übertragung von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in unbestrahlte nicht vorimmunisierte dysgammaglobulinämische

Empfängertiere mit HSA-Erstimmunisierung und Verabreichung von FCA

3.5.1.1. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter (Abb.9)

7 Tage nach Immunisierung mit HSA, d.h. am 8. Tag nach Zellübertragung ist ein Gesamttagglutinationstiter von 7,6 nachweisbar, der nach FCA Verabreichung ihren Höchststand am 13. Tag erreicht und zum 32. Tag hin abfällt. ME-resistente Antikörper können nicht nachgewiesen werden.

3.5.1.2. Verlauf der ELISA-ermittelten Anti-HSA-Konzentrationen (Abb.10)

Eine sehr geringfügige Produktion von Antikörpern wird am 5. Tag nach Zellübertragung, d.h. 4 Tage nach HSA Immunisierung festgestellt. Ein deutlicher Anstieg findet erst am 8. Tag statt, wo der Anteil an IgG-Antikörpern am stärksten ist (26 $\mu\text{g/ml}$). IgM- und IgA-Antikörper erreichen ihren Höchststand nach FCA Verabreichung am 13. Tag, wonach sie, wie IgG-Antikörper, zum 32. Tag hin stark abfallen.

3.5.1.3. Verlauf der Serumimmunglobulinkonzentrationen (Abb.11)

Die IgG-Konzentration steigt bis zum 8. Tag nach Zellübertragung, d.h. 7 Tage nach Immunisierung mit HSA mit dort festgestelltem Höchststand an (133 $\mu\text{g/ml}$), um danach kontinuierlich abzufallen.

IgM- und IgA-Konzentrationen steigen bis zum 13. Tag mit leichten Niveauunterschieden schwach an und erreichen ihre höchsten Werte nach kontinuierlichem Anstieg dagegen erst am 32. Tag.

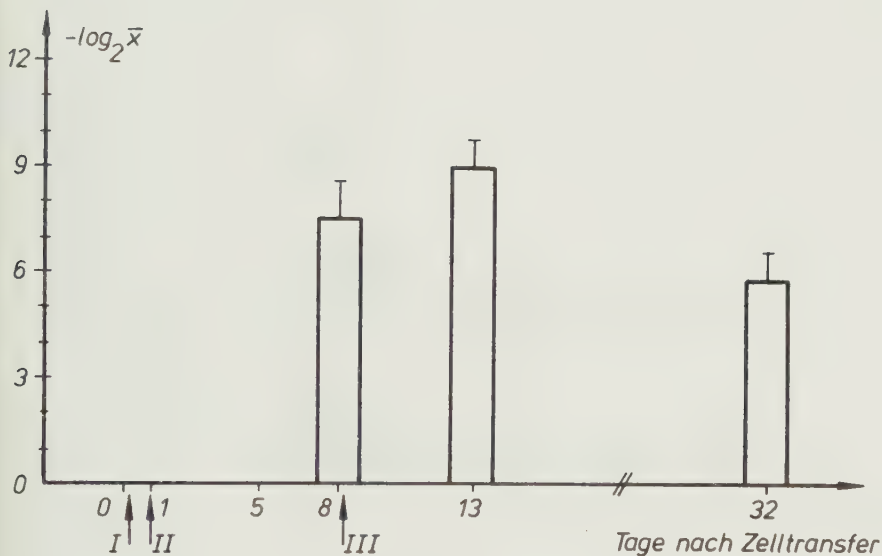


Abb.9: Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log_2 \bar{x}$) unbestrahlter nicht vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfänger-tiere nach Transfer von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (I), Immunisierung mit HSA i.m. (II) und Verabreichung von FCA i.m. (III)



Gesamtstiter



ME-resistente Antikörper

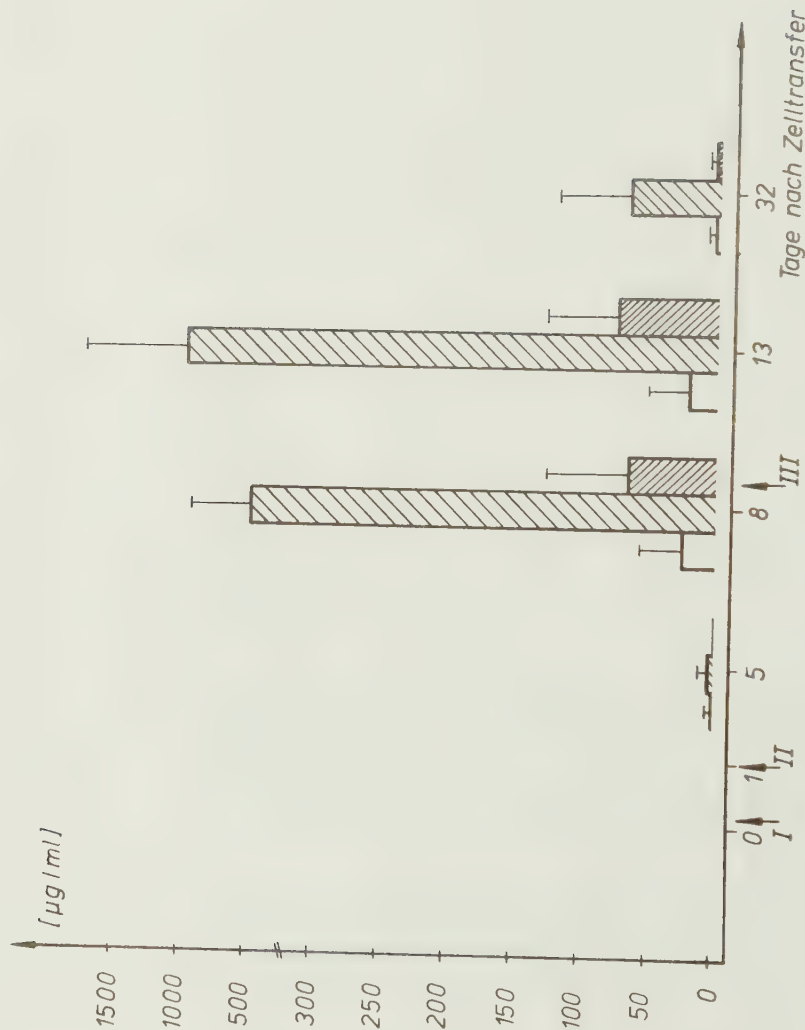


Abb. 10: Anti-HSA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) unbestrahlter, nicht vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere nach Transfer von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spender-tiere (I), Immunisierung mit HSA i.m. (II) und Verabreichung von FCA i.m. (III)

□ Anti-HSA-IgG ▨ Anti-HSA-IgM ▩ Anti-HSA-IgA

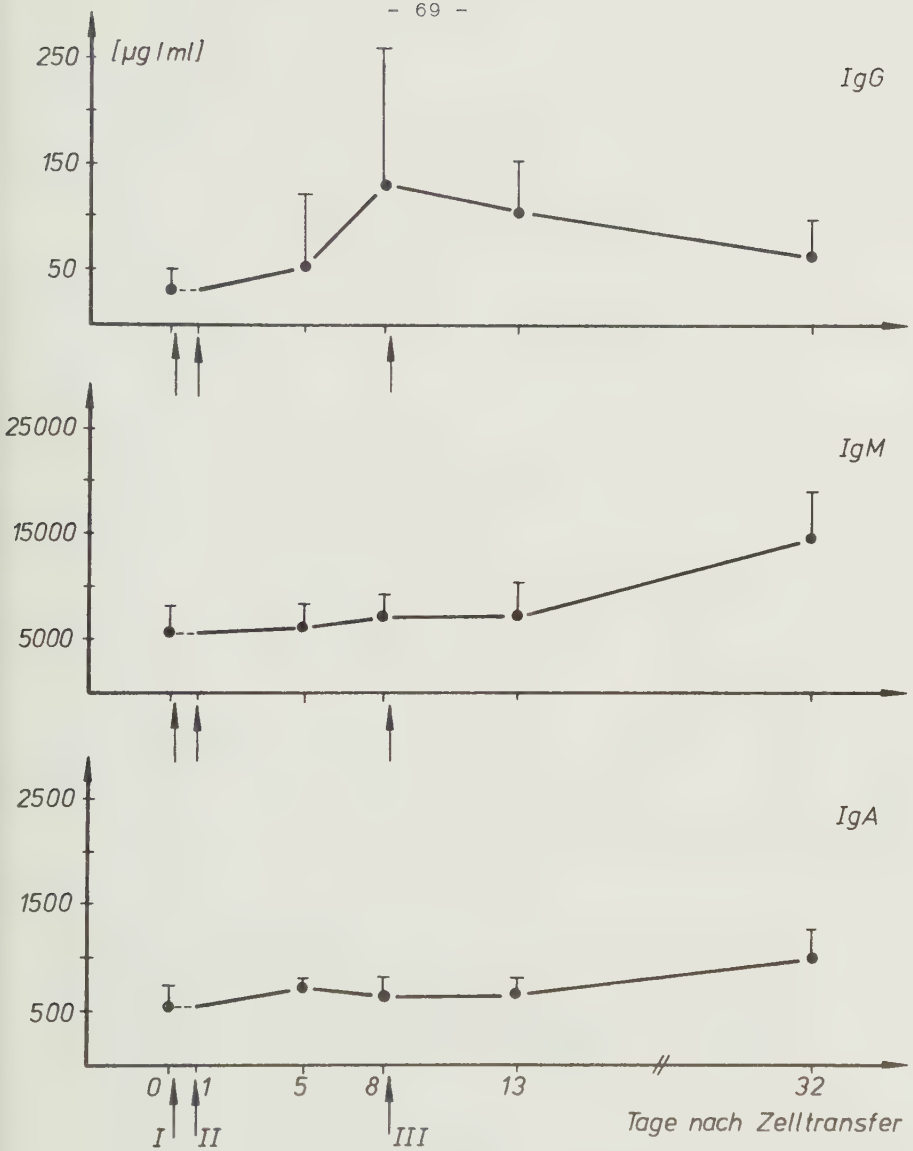


Abb.11: Serumimmunglobulin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) un-
 strahlter nicht vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer
 Empfängertiere nach Transfer von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und
 T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinä-
 mischer Spendertiere (I), Immunisierung mit HSA i.m. (II)
 und Verabreichung von FCA i.m. (III)

3.5.2. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter, der ELISA-ermittelten Anti-HSA- und der Serumimmunglobulinkonzentrationen nach Übertragung von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere in unbestrahlte HSA-vorimmunisierte dysgammaglobulinämische Empfängertiere mit Immunisierung mit HSA und Verabreichung von FCA

3.5.2.1. Verlauf der Anti-HSA-Hämagglutinationstiter (Abb.12)

7 Tage nach Immunisierung mit HSA, d.h. am 8. Tag nach Zellübertragung kommt es zu einem Anstieg des Gesamttiters, der seinen höchsten Wert wie in Abb.9 nach FCA Verabreichung am 13. Tag erreicht und zum 32. Tag hin abfällt. Im Vergleich zur nicht vorimmunisierten Gruppe liegen die Gesamt-Hämagglutinationstiter signifikant niedriger.

ME-resistente Antikörper können lediglich bei einem Tier am 32. Tag festgestellt werden.

3.5.2.2. Verlauf der ELISA-ermittelten Anti-HSA-Konzentrationen (Abb.13)

Die IgG-, IgM- und IgA-Antikörper steigen am 8. Tag nach Zellübertragung, d.h. 7 Tage nach HSA Immunisierung deutlich an. Sie erreichen, nach weiterem starken Anstieg, nach FCA Verabreichung am 13. Tag ihre höchsten Werte (Anti-HSA-IgG $147 \mu\text{g/ml}$) und fallen zum 32. Tag hin ab.

3.5.2.3. Verlauf der Serumimmunglobulinkonzentrationen (Abb.14)

Die IgG- und IgM-Konzentrationen steigen vom Zeitpunkt der HSA Immunisierung am 1. Tag nach Zellübertragung bis zum 32. Tag kontinuierlich an. Die IgG-Werte betragen bis zu $444 \mu\text{g/ml}$.

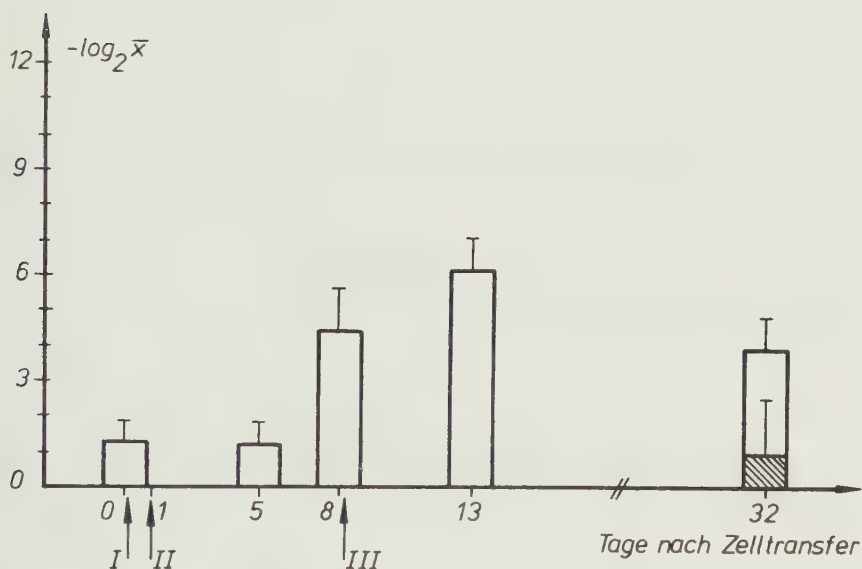


Abb.12: Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log_2 \bar{x}$) unbestrahlter HSA-vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfänger-tiere nach Transfer von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (I), Immunisierung mit HSA i.m. (II) und Verabreichung von FCA i.m. (III)



Gesamt-titer



ME-resistente Antikörper

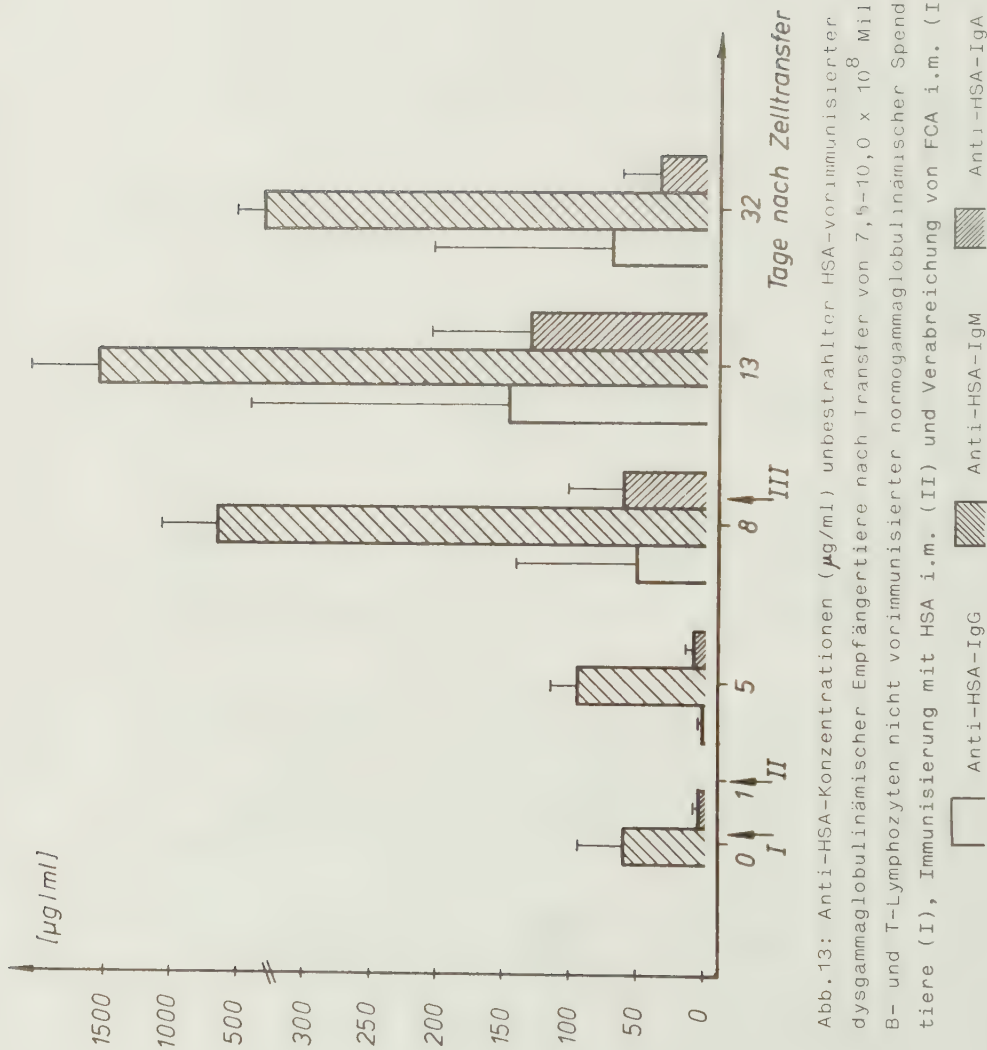


Abb. 13: Anti-HSA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) unbestrahlter HSA-vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere nach Transfer von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz-B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spender-tiere (I), Immunisierung mit HSA i.m. (II) und Verabreichung von FCA i.m. (III)

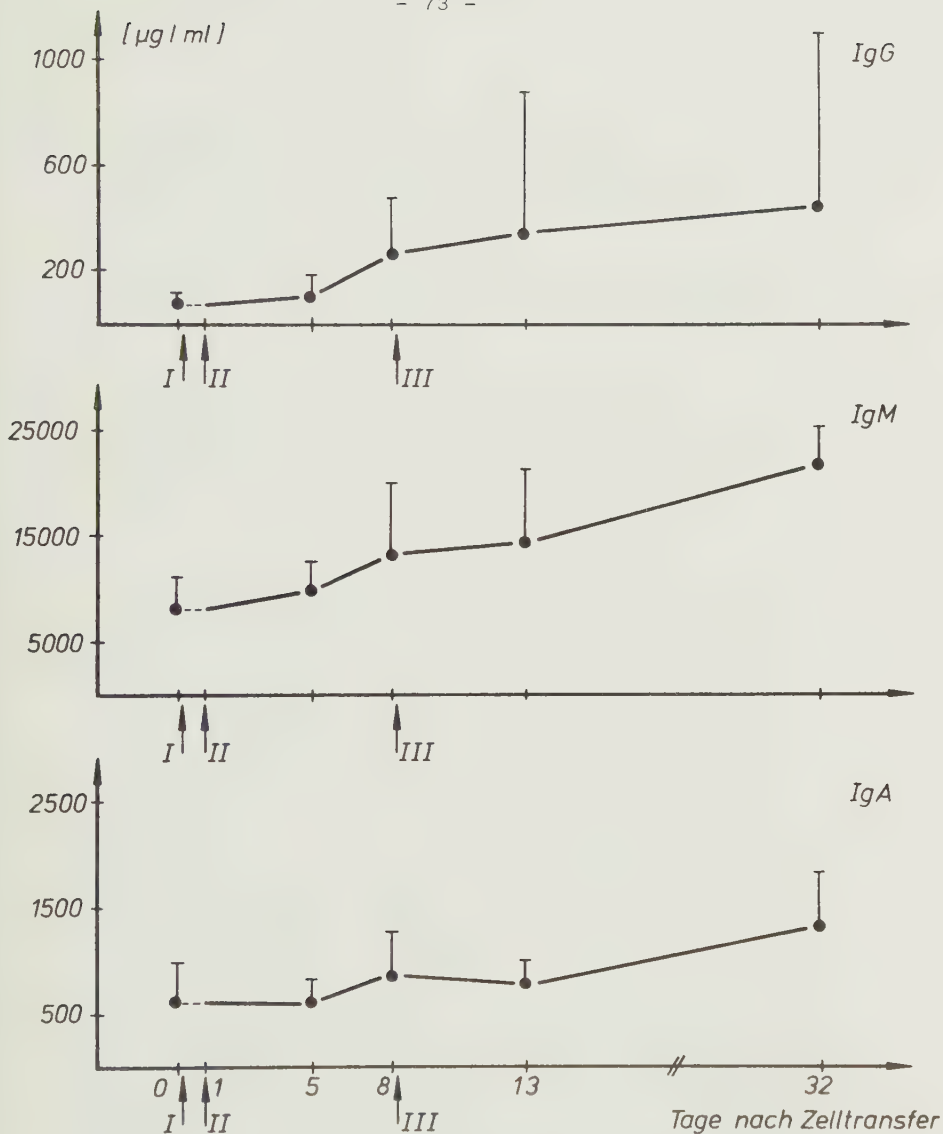


Abb. 14: Serumimmunglobulin-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) unbestrahlter HSA-vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere nach Transfer von $7,5-10,0 \times 10^8$ Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (I), Immunisierung mit HSA i.m. (II) und Verabreichung von FCA i.m. (III)

Ein Anstieg der IgA-Konzentration ist erst am 8. Tag nach Zelltransfer feststellbar und nach leichtem Abfall erreicht sie wie IgG und IgM ihren Höchststand am 32. Tag.

3.5.3. Vergleichende Gegenüberstellung der in 3.5.1 bzw. 3.5.2 dargestellten Ergebnisse

In diese Untersuchungen wurden Tiere miteinbezogen, die schon in anderen Experimenten mit HSA behandelt worden waren (Immunisierung 130 Tage vor Transfer). Ergebnisse mit unbehandelten und vorbehandelten Tieren wurden deshalb getrennt dargestellt und sollen hier miteinander verglichen werden.

Ein kurzfristiges Auftreten von ELISA-ermittelten Anti-HSA-IgG-Antikörpern sowie eine Steigerung der Serum-IgG-Konzentrationen können in unbestrahlten nicht vorimmunisierten bzw. HSA-vorimmunisierten dysgammaglobulinämischen Empfängertieren nach Übertragung von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere festgestellt werden.

Die Gesamt-Hämagglutinationstiter der vorimmunisierten Tiere liegen signifikant niedriger im Vergleich zur nicht vorimmunisierten Gruppe (s. Abb.9 und 12).

Die höchsten Anti-HSA-IgG-Konzentrationen werden bei den nicht vorimmunisierten Tieren am 8. Tag ($26 \mu\text{g/ml}$; s. Abb.10), bei den vorimmunisierten Empfängern am 13. Tag ($147 \mu\text{g/ml}$; s. Abb.13) nach Zellübertragung, d.h. 12 Tage nach HSA Immunisierung nachgewiesen.

Die Serum-IgG-Werte erreichen bei der nicht vorimmunisierten Gruppe ihren Höchststand am 8. Tag nach Zelltransfer ($133 \mu\text{g/ml}$; s. Abb.11), während bei den vorimmunisierten Tieren ein kontinuierlicher Anstieg bis zum 32. Tag festzustellen ist ($444 \mu\text{g/ml}$; s. Abb.14).

4. DISKUSSION

Zweck der Untersuchungen war der Versuch einer Rekonstitution der IgG-Synthesefähigkeit erblich dysgammaglobulinämischer UM-B19-Hühner mittels adoptiver Übertragung von Milz B- und T- bzw. T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer UM-B19-Spendertiere.

Eine längerfristige Restauration der humoralen Immunität gegenüber dem T-abhängigen Antigen HSA unter zusätzlicher Verabreichung von FCA konnte hierdurch nicht erzielt werden.

Die Ergebnisse der in vitro Studien bezüglich der Inkorporation und Umsatzrate von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in Lymphozyten müssen im Hinblick auf die angewandte "tracer sample" Methode beurteilt werden. Die physiologische Migration der transferierten $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- bzw. Thymuslymphozyten aus der Blutbahn in verschiedene Gewebekompartimente läßt sich somit quantitativ erfassen.

Im Gegensatz zu den Untersuchungen von DE KRUYFF et al. (24) beim Huhn kann hier ein selektiver Einbau des spezifischen RNA Markers $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin in Thymuszellen im Vergleich zu einer defizienten Inkorporation in Milzzellen festgestellt werden. Dies läßt sich möglicherweise durch die unterschiedliche metabolische Stabilität und biochemische Charakteristiken der RNA-Fractionen der entsprechenden Zellen erklären (15). Der prozentuale Anteil der nach 24stündiger Kultivierung verbleibenden intrazellulären Radioaktivität in Milz- oder Thymuslymphozyten kann als nahezu identisch betrachtet werden (ca. 20% der Ausgangsaktivität). Diese Tatsache gestattet eine direkte Korrelation zwischen der im Gewebe ermittelten Radio-

aktivitätsmenge und der Anzahl der dort lokalisierten Zellen. Voraussetzung hierfür ist jedoch die Übereinstimmung der Metabolismusrate in vitro und in vivo.

Der Feststellung der selektiven Ansiedlung von Übertragenen Milz- und Thymuslymphozyten in der bestrahlten bzw. unbestrahlten Empfänger milz gilt besondere Beachtung. Dies kann einerseits mit dem von GRISCELL et al. (52) beschriebenen Phänomens des "organ type homing" erklärt werden; Zellen lokalisieren sich in höherer Zahl in jenem lymphoiden Organ des Empfängers, dem sie entstammen. Andererseits zeigen WU und LANCE (167) ein selektives "homing" von relativ kurzlebigen Thymozyten in die Milz. Die bevorzugte Lokalisation von Thymozyten in der Zäkaltonsille läßt ein T-abhängiges Rezirkulationsgebiet vermuten, wogegen allerdings der von IVANYI (70) angegebene 45-55 %ige Anteil an B-Zellen spricht. Spezifische Interaktionen und Affinitäten zwischen Lymphozyten und Endothel der kleinen Gefäße lymphoider Gewebe bestimmen die Selektivität der Migration (42).

Mobile Zellpopulationen ändern ihr Verteilungsschema mit der Zeit. Dies muß als Einschränkung des methodischen Ansatzes berücksichtigt werden. Influx und Efflux der Zellen bestimmen die Lokalisationsdauer der transferierten Lymphozyten in den lymphatischen Organen (45). 24-Stundenwerte reflektieren jedoch die Verteilung bei nahem Gleichgewicht innerhalb des rezirkulierenden Pools (121). Weiterhin werden die Anwendungsmöglichkeiten der radioaktiven Markierung für quantitative in vivo-Migrationsuntersuchungen durch die Elution des Isotops aus den Zellen begrenzt (121). Durch Neuverteilung und Persistenz im Gewebe können Überschätzungen der Zellkonzentrationen in nicht lymphatischen Organen auftreten. Hierauf deuten

die im Muskelgewebe und Serum nachgewiesenen Radioaktivitätsmengen hin. Eine präzise Differenzierung zwischen zellulärem (lymphozytärem) und interstitiellem $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin ist somit von entscheidender Bedeutung und erfolgt mit der jeweils angewandten Bestimmungsmethode.

In der vorliegenden Arbeit wird ein starker Anstieg des prozentualen Anteils der sich in den bestrahlten Milzen lokalisierenden Spendermilzlymphozyten - bezogen auf die Gesamtlymphozytenzahl der Milz - festgestellt. Es kann angenommen werden, daß die strahleninduzierte regionale Depletion von lymphoiden Zellen der Empfänger milz "Raum" bzw. ein "Milieu" für die verstärkte Besiedlung von Spenderzellen erzielt (18,26,154). Die Gesamtanzahl der in den Empfänger milzen nachgewiesenen Spenderlymphozyten wird jedoch durch die fokussierte Milzbestrahlung nicht erhöht.

Bezüglich der unter 3.4 und 3.5 durchgeführten Untersuchungen soll kurz auf die Grundbedingungen eingegangen werden, die beim dysgammaglobulinämischen Versuchstier hinsichtlich der Immunisierung mit Humanserumalbumin (HSA) inklusive Stimulierung mit Freund's complete Adjuvans (FCA) vorliegen.

Immunisierungen mit dem T-abhängigen Antigen HSA haben gezeigt, daß dysgammaglobulinämische Hühner ausschließlich mit der Bildung von Antikörpern der IgM-Klasse reagieren (97,162). Daneben kommt es zu einer Steigerung der IgM- und IgA-Serumimmunglobulinkonzentrationen, während die IgG-Konzentration unverändert bleibt. Demgegenüber reagieren normogammaglobulinämische Hühner mit einer hohen IgG-Antikörper-Antwort und einer Steigerung der IgG-Serumkonzentration auf HSA.

Die zusätzliche Verabreichung von FCA führt bei dysgamma-globulinämischen Tieren zu einer verstärkten Synthese von IgM- und IgA-Antikörpern gegenüber dem gleichzeitig applizierten Antigen HSA, sowie zu einer weiteren starken Erhöhung der Serum IgM-Spiegel (auch ohne zusätzliche Antigengabe; 40,96,162).

Die IgG-Synthese kann somit bei dysgammaglobulinämischen Hühnern nicht durch die Verabreichung von HSA und FCA induziert werden. Eine Steigerung der Antikörpersynthese findet statt, das charakteristische Isotypmuster bleibt jedoch mehr oder weniger unbeeinflusst.

Nach ROSENBERG und ASOFSKY (123) setzt die IgM-Synthese auf ein T-abhängiges Antigen die Interaktion von B-Zelle, Antigen-spezifischer T-Helferzelle (Th_1) und Makrophagen, sowie nach WALDMANN et al. (161) die spezifische Erkennung des Antigens durch Oberflächenimmunglobuline der B-Zellen voraus. Zusätzliche Signale einer zweiten Antigen-unspezifischen T-Helferfraktion (Th_2) sind erforderlich für die IgG- (und IgA-) Synthese. Dieser zweite Ig-Klassen regulierende T-Helferzellpool wird sowohl durch Immunglobulin-Determinanten der B-Zellen als auch durch Antigen-unspezifische Interleukine (B-cell growth promoting T_H -product; 171) aktiviert.

FCA zeigt seine primäre Wirkungsweise in einer Verstärkung der Antigen-spezifischen Th_1 -Fraktion, deren Bildung bei T-abhängigen Antigenen zur unspezifischen Aktivierung von Immunglobulin-synthetisierenden Zellen führt (6). Diese Stimulation von T-Helferzellfunktionen bewirkt folglich eine polyklonale Aktivierung der B_G -Zellklone (145, 159). Die Isotypen der gebildeten Antikörper richten sich nach dem Differenzierungsgrad der aktivierten B-Zellen.

Die polyklonale Stimulation bei unseren HSA- und FCA-vor-immunisierten Empfängertieren führt jedoch, auf Grund der reduzierten IgG-vermittelten negativen Rückkopplung auf IgM, zu einer ungebremsten IgM-Synthesesteigerung. Das vollständige Fehlen einer IgG-Produktion bei diesen "nonresponders" läßt sich möglicherweise dadurch erklären, daß FCA indirekt eine Barriere für die Rekonstitution der IgG-Synthesefähigkeit hervorruft.

In diesen durch HSA- bzw. HSA und FCA-erzeugten Immunstatus erfolgen in der vorgelegten Arbeit exogene Eingriffe; neben der Übertragung von Milz B- und T- bzw. T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer Spendertiere erhalten auch 9 von 17 Empfängertieren eine zusätzliche fokussierte Milzbestrahlung.

Folgende strahleninduzierte Wirkungen auf das Immunsystem können in der radiosensitiven Adaptionsphase erzielt werden: Schädigung des Gedächtniszellpools (33,53,110) mit Supprimierung der Sekundärantwort (140) und verstärkte Lokalisation, Proliferation und Differenzierung der transferten immunkompetenten Zellen (18,26,154).

Immunglobuline erweisen sich bezüglich ihres Reaktionsvermögens und ihrer Antigenbindungsfähigkeit strahlenunempfindlich (124). Die dargestellten Ergebnisse lassen jedoch einen intensiven strahleninduzierten Abfall der Hämagglutinationstiter feststellen (s. Abb.3 und 6). Die im ELISA-ermittelte Antikörperbindungskapazität nimmt demgegenüber weit geringer ab (bei 3 von 9 Tieren ist keinerlei Abnahme nachzuweisen). Demnach scheint die fokussierte Milzbestrahlung die hämagglutinierende Antigenbindungsfähigkeit spezifischer Antikörper zu beeinträchtigen.

Aus der Betrachtung der Immunglobulin-Verläufe ist ersichtlich, daß diesbezüglich ein Abfall der Konzentrationen im Gefolge der Milzbestrahlung auftritt. Der Verlauf der Immunglobulin-Konzentrationen bei Einzeltieren ist allerdings auch ohne erfaßbare äußere Einflüsse großen Schwankungen unterworfen (s. z.B. KLUMPNER; 87).

Die regulatorischen Mechanismen von T-Helfer und T-Suppressorzellen bestimmen das immunologische Gleichgewicht. Die Suppressoraktivität in der Milz ist stärker ausgeprägt als in anderen lymphoiden Organen (50,109,114). Die von MORETTA et al. (108) charakterisierten T_{μ} -Helfer- (mit Rezeptoren für die Fc-Portion von IgM) und T_{γ} -Suppressorzellen (mit Rezeptoren für die Fc-Portion von IgG) verteilen sich unterschiedlich in den lymphoiden Kompartimenten (55). So weist die Milz einen sehr hohen Anteil an T_{γ} -Zellen im Vergleich zum Knochenmark, Thymus oder zu peripheren Blutlymphozyten auf.

T-Helferzellen erweisen sich radioresistent (4,58,73) und T-Suppressorzellen radiosensitiv (100,103,108). GERSHON (47) und HERZENBERG et al. (61) beschreiben die Verstärkung der Immunantwort gegenüber T-abhängigen Antigenen durch die spezifische strahleninduzierte Eliminierung von regulatorischen T-Suppressorzellen in der Milz mit dadurch erhöhter radioresistenter T-Helferaktivität.

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich allerdings, daß die immunrestaurative Kapazität der Übertragenen Milzlymphozyten nicht durch die lokale Milzbestrahlung des Empfängers verstärkt wird. Es liegt nahe zu vermuten, daß die Einstellung einer T-Helfer-T-Suppressor-Homöostase hierdurch nicht erzielt werden kann. Die Verschiebung der Zellpopulationen ruft Alterationen der Zellinteraktionen und Immunleistungen hervor, jedoch nicht im

Sinne eines zur IgG-Synthese führenden Erziehungseffekts. Dies könnte auf einen grundsätzlichen Unterschied zwischen dem Vogel- und Säuger-Immunsystem hinweisen.

Die transferierten Milz T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer Tiere können möglicherweise einen immunregulatorischen und immunrestaurativen T-Helfereffekt in den dysgammaglobulinämischen Empfängern ausüben; Isotyp-spezifische T-Helferzellen bewirken eine direkte Stimulierung der Proliferation und Differenzierung spezifischer B_G-Zellklone mit Verstärkung des Antikörper-bildenden Potentials gegenüber T-abhängigen Antigenen (57,60,109,161).

CHANH et al. (19) weisen bei den dysgammaglobulinämischen UCD 140 Hühnern IgG-synthetisierende B-Zellen nach erfolgreicher in vitro Stimulation mit Pokeweed-Mitogen, Eliminierung der T-Suppressorzellen und Zusatz von T-Helferzellen aus Kontrolltieren nach.

Am Modell der erblichen Dysgammaglobulinämie der UM-B19-Hühner zeigt sich dagegen, daß eine Restauration der IgG-Synthesefähigkeit durch die Übertragung von Milz T-Lymphozyten nicht erzielt werden kann. Weiterhin weisen Milz T-Lymphozyten eine geringere Effektivität hinsichtlich der Regeneration der strahleninduzierten Hemmung der Anti-HSA-IgM- und IgA-Konzentrationen (vergl. Abb.4 und 7) und der Immunglobulinsynthese (vergl. Abb.5 und 8) auf, im Vergleich zur Übertragung von Milz B- und T-Zellen.

LALLY et al. (91) beschreiben die Übertragung unspezifischer T-Zellhilfe in bestrahlte Mäuseempfänger nach Transfer von Milzzellen normaler Tiere. Die IgG- und IgA-Antikörper-Antworten sind dabei abhängig von der Anzahl der injizierten T-Lymphozyten.

IgG-produzierende Zellen zeigen eine stärkere T-Zellabhängigkeit im Vergleich zu IgM-synthetisierenden Zellen (30, 125, 147). Auf Grund der späten Ontogenese von IgG- (und IgA-) synthetisierenden Zellen, erweisen sich ihre Vorstufen unreifer als IgM-Vorstufen. Sie sind somit möglicherweise sensitiver gegenüber der regulatorischen Wirkung der T-Helfer- bzw. der T-Suppressorzellen.

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, daß dysgammaglobulinämische UM-B19-Hühner grundsätzlich zur transitorischen bzw. permanenten Synthese von Antikörpern und Immunglobulinen der IgG-Klasse befähigt sind; bei der natürlichen Rekonstitution der IgG-Synthese zwischen dem 4. und 8. Monat (transitorische Form der Dysgammaglobulinämie; 95), beim IgG-Peak zwischen der 3. und 8. Lebenswoche (95), weiterhin bei der Verabreichung des T-unabhängigen Antigens Brucella abortus und FCA (162), von HSA und Levamisol (141) sowie von HSA und LPS (2). Diese Ergebnisse lassen eine eingeschränkte Immunregulation erkennen und deuten auf die Gegenwart von reifen B_G-Zellen und IgG-spezifischen T-Helferfaktoren hin. HSA-spezifische B_G-Zellklone können in unterschiedlichem Ausmaß nachgewiesen werden (90).

Die Beteiligung von T-Zell-vermittelten Suppressormechanismen am Zustandekommen des Immundefekts ist außerdem in Betracht zu ziehen.

T-Suppressorzellen wirken als negative Regulatoren der Immunantwort; sie führen zu Störungen sowohl der Proliferation der B-Zellen und ihrer Ausreifung zu Immunglobulin-synthetisierenden Plasmazellen als auch der Makrophagen-T-Zell-Interaktion. Die Charakterisierung der "Target" Zelle der Suppression ist noch ungeklärt.

Es lassen sich unterscheiden:

- a) die direkte Interaktion der T-Suppressorzelle oder deren Produkte auf die B-Zellreihe (12,51,72,81,93).
- b) die indirekte Wirkung auf B-Zellen durch Inaktivierung der T-Helferzellen oder deren Signale (60,81,100).

Wie am Modell der "infektiösen Agammaglobulinämie" des Huhnes dargestellt werden kann, ruft ein primärer B-Zelldefekt die sekundäre Entwicklung einer gesteigerten T-Suppressoraktivität hervor. Humorale Immundefizienzen entwickeln sich progressiv in chirurgisch bursektomierten und/oder bestrahlten Empfängern nach Übertragung von histokompatiblen lymphoiden Zellen (Milz-, Knochenmark-, Thymuszellen, periphere Blutlymphozyten) agammaglobulinämischer Spenderhühner (13,51,81,114).

Als Folge eines durch chirurgische Bursektomie erzeugten Defizits eines Immunglobulin-Isotyps zeigt BLAESE et al. (11) die Bildung von Isotyp-spezifischen T-Suppressorzellen.

Zelluläre Dysfunktionen finden sich bei BENEDICTs UCD 140 Hühnern mit erblicher 7S Ig-Defizienz und Dysgammaglobulinämie. Sowohl Bursaentwicklungsdefekte als auch ein Überwiegen von IgG-spezifischen T-Suppressorzellen konnten nachgewiesen werden (19,35).

Die beim Menschen vorkommenden Dys- und Agammaglobulinämien entsprechen z.T. mehr oder weniger dem Bild der UM-B19-Dysgammaglobulinämie.

HATTORI et al. (59) weisen bei einem dysgammaglobulinämischen Patienten in Ko-Kulturstudien eine gesteigerte IgG-spezifische T-Suppressorzellaktivität bei gestörter T-Helferzellfunktion sowie einer B-Zellreifungsstörung nach.

Bei der "common variable hypogammaglobulinemia", den Isotyp-spezifischen Immundefizienzen und der Hypogammaglobulinämie mit Thymom werden einerseits primäre B-Zell-reifungs- und Differenzierungsdefekte zu Antikörpersynthetisierenden und sezernierenden Plasmazellen angenommen. Andererseits können gestörte immunregulatorische T-Zellfunktionen festgestellt werden: sowohl die sekundäre Entwicklung von T-Suppressorzellen, welche die Immundefizienz erhält oder verstärkt, als auch das Fehlen von T-Helferzellen. Hierbei sind die primären Ursachen meist unbekannt (7,8,12,59,89,118,129,130,133,134,160,161).

TOIVANEN et al. (154) können eine längerfristige Rekonstitution der humoralen Immunität in erwachsenen agammaglobulinämischen Hühnern durch die Übertragung von histokompatiblen Bursa-, Milz-, Knochenmark- oder Thymuszellen nicht erzielen. Sowohl bei TOIVANEN et al. (154) als auch bei den vorliegenden Ergebnissen läßt sich jedoch eine kurzfristige T-Zell abhängige IgG-Antikörper-Antwort sowie eine Steigerung der Serum-IgG-Konzentrationen nach Übertragung von histokompatiblen Milzzellen feststellen.

Im Gegensatz zur vorigen Literaturangabe wird eine IgG-Produktion nur bei den unbestrahlten UM-B19-Empfängern nachgewiesen. Sie ist weiterhin in HSA-vorimmunisierten Empfängern stärker ausgeprägt als in nicht sensibilisierten.

Nach CHOI (20) erweist sich die Immunantwort abhängig von der Anzahl der injizierten Milz B-Lymphozyten.

Auffällig ist das Fehlen von 2-Mercaptoäthanol-resistenten Antikörpern bei unseren Respondertieren (s. Abb.9 und 12). Beim Haushuhn zeigt sich, daß IgG-Antikörper zwar weniger gegen die 2-ME-Reduktion empfindlich, jedoch nicht

absolut resistent sind (143,170). Somit werden die wenigen sonst resistenten Antikörper unter bestimmten Bedingungen inaktiviert.

Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß das kurzfristige Auftreten von Immunglobulinen und Antikörpern der IgG-Klasse durch die immunkompetenten B_G-Zellen der transferierten Population bedingt sein kann. Nach LUSTER et al. (98) werden diese kurzlebigen Zellen und ihre Immunglobulin-Produkte innerhalb von 4-6 Wochen nach Zellübertragung katabolisiert und sind danach im Empfänger nicht mehr nachweisbar.

Mißerfolge der Knochenmarktransplantationen beim Menschen finden ihre Ursachen sowohl bei einer letalen Graft-Ver-sus-Host-Reaction (GVHR) als auch bei einer Transplantat-abstoßung. Letztere kann auch nach MLR- (mixed lymphocyte reaction) identischen Spender-Empfängerkombinationen auftreten (71). Übereinstimmung am Haupthistokompatibilitäts-locus (MHC) bedeutet nicht gleich syngen.

Aus diesem Grund sind als mögliche Ursache der nicht erfolgten Rekonstitution schwache antigene Unterschiede zu erwägen, die durch "minor loci" bedingt sind. Die T-Zell-vermittelte Alloimmunität gegen minor Histokompatibilitätsantigene soll jedoch keine wesentliche Rolle bezüglich der Mechanismen spielen, die sowohl eine längerfristige Rekonstitution der humoralen Immunität verhindern (71) als auch eine Induktion der Suppressor-aktivität hervorrufen (50). Es ist folglich anzunehmen, daß die transplantierten Zellen im Empfänger proliferieren und reifen und nicht immunologisch abgestoßen werden.

Weiterhin können Unterschiede hinsichtlich der Reife der transplantierten Zellen und der lokalen Umgebung des Empfängers als mögliche Ursachen ausgeschlossen werden.

Nach TOIVANEN et al. (154) und IVANYI und MAKINGS (71) wird die Transplantation von syngenem hämopoetischen Zellen durch Resistenzbarrieren ("syngene Resistenz") begrenzt. Ihre Kontrollmechanismen weichen von denen der klassischen Alloimmunreaktionen ab. Die Empfängerresistenz gegen transplantierte histokompatible B-Zellen und die Suppression der Empfänger B-Zellen beruhen auf einer antagonistischen Interaktion dieser B-Zellpopulationen (2-Weg-Homöostasekontrolle). Möglicherweise unterliegen sie dem Einfluß einer Subpopulation lymphoider Zellen, d.h. spezifisch sensibilisierter T-Zellen, genannt "natural killers". Die Frage, ob T-Suppressorzellen an der Vermittlung der isogenen B-Zellbarriere beteiligt sind, ist ungeklärt.

Daneben ist das Alter der Empfängertiere ein entscheidender Faktor bei der Transplantation lymphoider Zellen; die Resistenzbarriere nimmt nämlich mit dem Alter zu (69, 154).

Es liegt nahe zu vermuten, daß die syngene Resistenz der Empfänger durch ihre Konditionierung in Form einer fokussierten Milzbestrahlung nicht überwunden wird. Die Aufnahme und Reifung der zur Langzeitrestauration der humoralen Immunität befähigten B-Zellen wird somit inhibiert.

Beziehungen zwischen Suppressorzellphänomenen und Mißerfolgen der Restauration von Immundefizienzen nach Transplantation von lymphoiden Zellen sind noch ungeklärt. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen zeigt sich, daß die adoptive Übertragung von Milz B- und T- bzw. T-Lymphozyten nicht zur Einstellung einer IgG-spezifischen T-Helfer-T-Suppressor-Homöostase führt. Eine kurzfristige Stimulation der nicht reaktiven Empfänger B_G-Zellen manifestiert sich jedoch in der kurzfristigen IgG- und IgG-Antikörper-Synthese (s. Abb.11 und 14 bzw. 10 und 13).

Die alleinige Defizienz der B_G-Zellen und ihrer Vorstufen in den dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern kann auf Grund der dargestellten Ergebnisse als unwahrscheinlich betrachtet werden. Im Zusammenhang mit den eingangs erwähnten Ursachen des Immundefekts läßt sich ein aktiver Isotyp-(IgG-)spezifischer T-Suppressormechanismus postulieren.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An Hand des Modells der adoptiven Übertragung von histokompatiblen Lymphozyten wurde der Versuch einer Rekonstitution der IgG-Synthesefähigkeit erblich dysgammaglobulinämischer UM-B19-Hühner durchgeführt. Hierzu wurden Milz B- und T- bzw. T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer UM-B19-Spender in dysgammaglobulinämische UM-B19-Empfängertiere übertragen und deren Immunantwort gegenüber dem T-abhängigen Antigen HSA unter zusätzlicher Verabreichung von FCA gemessen.

Um auch den Effekt einer Vorbehandlung der Empfängertiere in Form einer fokussierten Milzbestrahlung zu untersuchen, wurden einige der Tiere entsprechend behandelt.

Eine längerfristige Rekonstitution der humoralen Immunität gegenüber dem T-abhängigen Antigen HSA konnte unter diesen Bedingungen nicht erzielt werden.

Ein kurzfristiges Auftreten von ELISA-ermittelten Anti-HSA-IgG-Antikörpern sowie eine Steigerung der Serum IgG-Konzentrationen konnte in unbestrahlten dysgammaglobulinämischen Empfängern nach Übertragung von histokompatiblen Milz B- und T-Lymphozyten normogammaglobulinämischer Spender nachgewiesen werden.

Die IgG-Synthese in HSA-vorimmunisierten Empfängern war stärker ausgeprägt als in nicht sensibilisierten.

Die Übertragung von Milz T-Lymphozyten führte nicht zur Restauration der IgG-Synthesefähigkeit. Außerdem wiesen diese T-Lymphozyten eine geringere Effektivität hinsichtlich der Regeneration der strahleninhibierten Sekundärantwort im Vergleich zu Milz B- und T-Lymphozyten auf.

Die immunrestaurative Kapazität der übertragenen Milzlymphozyten wurde nicht durch die vorherige fokussierte Bestrahlung der Empfänger milz verstärkt.

Die fokussierte Milzbestrahlung scheint die hämagglutinierende Antigenbindungsfähigkeit spezifischer Antikörper zu beeinträchtigen.

Um die physiologische Migration der übertragenen Zellen aus der Blutbahn in die verschiedenen Gewebekompartimente zu verfolgen und deren Beeinflussung durch vorherige Organbestrahlung zu untersuchen, wurden *in vitro* und *in vivo* Studien mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Lymphozyten durchgeführt.

Es konnte eine selektive Markierung der Thymuszellen mit $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin im Vergleich zu einer geringeren Inkorporation in Milzzellen festgestellt werden.

Der prozentuale Anteil der nach 24stündiger Kultivierung verbleibenden intrazellulären Radioaktivität in Milz- und Thymuszellen konnte als nahezu identisch betrachtet werden (ca. 20% der Ausgangsaktivität).

Nach Übertragung von $6\text{-}^3\text{H}$ Uridin markierten Milz- und Thymuslymphozyten wurde eine bevorzugte Lokalisation sowohl in der unbestrahlten als auch bestrahlten Empfänger-milz nachgewiesen.

Die Anzahl der in den Empfänger-milzen nachgewiesenen Spenderlymphozyten unterschied sich nur unwesentlich 24 Stunden nach Zellübertragung bei den unbestrahlten bzw. milzbestrahlten Tieren.

Eine starke Erhöhung des prozentualen Anteils der sich in den Empfänger-milzen lokalisierenden Spender-Milzlymphozyten - bezogen auf die Gesamtlymphozytenzahl der Milz - konnte jedoch bei den milzbestrahlten Tieren festgestellt werden.

Die Ergebnisse werden im Zusammenhang mit Störungen der immunregulatorischen Mechanismen erblich dysgammaglobulinämischer UM-B19-Hühner diskutiert.

ATTEMPTS TO RECONSTITUTE IMMUNODEFICIENT UM-B19 CHICKENS BY CELL TRANSFER

6. SUMMARY

Based on the adoptive transfer of histocompatible lymphocytes, an attempt was made to reconstitute the IgG-producing ability in genuine dysgammaglobulinemic UM-B19 chickens. For this purpose spleen B- and T- or T-lymphocytes of normogammaglobulinemic UM-B19 donors were transferred to dysgammaglobulinemic UM-B19 hosts and their immune response to the T-dependent antigen HSA, with the additional application of FCA, was studied.

Several of the recipients were exposed to a focussed irradiation of the spleen in order to investigate the effect of such pretreatment.

A long term reconstitution of humoral immunity to the T-dependent antigen HSA could not be achieved under these conditions.

A short term appearance of Anti-HSA-IgG-antibodies, as shown by ELISA, as well as an increase in Serum-IgG-concentrations was demonstrated in non-irradiated dysgammaglobulinemic hosts after transfer of histocompatible spleen B- and T-lymphocytes from normogammaglobulinemic donors.

The IgG-synthesis in HSA preimmunized hosts was more evident than in non-presensitized.

The transfer of spleen T-lymphocytes did not lead to a reconstitution of IgG-synthesis. Furthermore these T-lymphocytes proved to be less effective in comparison to spleen B- and T-lymphocytes in regenerating the secondary response, which had been inhibited by irradiation.

The ability of the transferred spleen lymphocytes to restore the immune response was not increased by first irradiating the spleen of the host animal.

Spleen irradiation seems to impair the haemagglutinating antigen-binding capacity of specific antibodies.

In order to trace the physiological migration of the transferred cells from the blood to the tissues and to study the influence of organ-irradiation, in vitro and in vivo experiments were carried out using 6-³H Uridine labeled lymphocytes.

A selective labeling of thymus cells with 6-³H Uridine was shown, compared to a lesser incorporation in spleen cells.

After 24 hours cultivation the percentage of residual radioactivity in spleen and thymus cells was practically identical (approx. 20% of original levels).

Transfer of 6-³H Uridine labeled spleen and thymus lymphocytes led to their preferential seeding in both the irradiated and non-irradiated host spleens.

24 hours after cell transfer the number of donor lymphocytes in the host spleens of irradiated or non-irradiated animals differed only slightly.

Irradiating the spleen led to a large increase in the proportion of donor spleen lymphocytes found in the host's spleen.

The results are discussed in connection with the defects in the immunoregulatory mechanisms of genuine dysgamma-globulinemic UM-B19 chickens.

7. TABELLARISCHER ANHANG

Tabelle 3 (s. Abb.3)

Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log_2 \bar{x}$) dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA (A), Milzbestrahlung (B), Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3-9 Monate alt) und Zweitimmunisierung mit HSA (C)

Tiernr.: 1582, 1634, 1744, 2354, 25877

Tage nach Zelltransfer	A ↓ -35	B ↓ -1	C ↓ 2	6	13	20	32
<u>Gesamtstiter</u>							
$\bar{x}$	0,0	12,8	6,8	12,1	10,0	11,8	9,9
s	0,0	1,6	1,5	1,3	1,3	1,5	1,3
n	5	5	5	5	5	5	5
<u>ME-resistente Antikörper</u>							
$\bar{x}$	0,0	0,7	0,0	1,7	1,7	0,7	0,7
s	0,0	1,7	0,0	1,7	1,7	1,7	1,7
n	5	5	5	5	5	5	5

Tabelle 4 (s. Abb.4)

Anti-HSA-IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA (A), Milzbestrahlung (B), Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3-9 Monate alt) und Zweitimmunisierung mit HSA

Tiernr.: 1582, 1634, 1744, 2354, 25877

Tage nach Zelltransfer	A ↓ -35	B ↓ -1	C ↓ 2	6	13	20	32
<u>Anti-HSA-IgG</u>							
$\bar{x}$	0	0	3	2	1	1	1
s	0	0	4	2	2	2	1
n	5	5	5	5	5	5	5
<u>Anti-HSA-IgM</u>							
$\bar{x}$	0	241	254	617	1194	642	254
s	0	6	221	376	758	336	151
n	5	5	5	5	5	5	5
<u>Anti-HSA-IgA</u>							
$\bar{x}$	0	26	45	67	105	73	29
s	0	18	45	48	77	45	18
n	5	5	5	5	5	5	5

Tabelle 5 (s. Abb.5)							
IgG-, IgM-, und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Serum dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA (A), Milzbestrahlung (B), Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3-9 Monate alt) und Zweitimmunisierung mit HSA (C)							
Tiernr.: 1582, 1634, 1744, 2354, 25877							
Tage nach Zelltransfer	A ↓ -35	B ↓ -1	C ↓ 2	6	13	20	32
<u>IgG</u>							
$\bar{x}$	53	42	25	32	36	44	56
s	33	16	9	13	17	26	43
n	5	5	5	5	5	5	5
<u>IgM</u>							
$\bar{x}$	13529	21131	18632	19817	18064	22913	18457
s	8863	10380	14262	13723	8676	15385	10189
n	5	5	5	5	5	5	5
<u>IgA</u>							
$\bar{x}$	799	1466	775	1205	1911	2084	1467
s	500	920	528	646	1457	1826	1208
n	5	5	5	5	5	5	5

Tabelle 6 (s. Abb.6)							
Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log_2 \bar{x}$) dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA (A), Milzbestrahlung (B), Transfer von Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3-9 Monate alt) und Zweitimmunisierung mit HSA (C)							
Tiernr.: 1679, 1781, 2355, 2361							
Tage nach Zelltransfer	A ↓ -35	B ↓ -1	C ↓ 2	6	13	20	32
<u>Gesamtstiter</u>							
$\bar{x}$	0,0	8,1	0,2	8,3	8,6	7,8	7,6
s	0,0	0,7	1,6	1,3	0,7	1,0	1,0
n	4	4	4	4	4	4	4
<u>ME-resistente Antikörper</u>							
$\bar{x}$	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
s	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
n	4	4	4	4	4	4	4

Tabelle 7 (s. Abb.7)

Anti-HSA-IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA (A), Milzbestrahlung (B), Transfer von Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3-9 Monate alt) und Zweitimmunisierung mit HSA (C)

Tiernr.: 1679, 1781, 2355, 2361

Tage nach Zelltransfer	A ↓ -35	B ↓ -1	C ↓ 2	6	13	20	32
<u>Anti-HSA-IgG</u>							
$\bar{x}$	0	1	0	0	0	0	0
s	0	1	0	0	0	0	0
n	4	4	4	4	4	4	4
<u>Anti-HSA-IgM</u>							
$\bar{x}$	0	246	214	167	496	371	183
s	0	171	209	91	7	149	78
n	4	4	4	4	4	4	4
<u>Anti-HSA-IgA</u>							
$\bar{x}$	0	15	24	13	46	50	19
s	0	8	8	2	48	16	12
n	4	4	4	4	4	4	4

Tabelle 8 (s. Abb.8)

IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Serum dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Erstimmunisierung mit HSA und FCA (A), Milzbestrahlung (B), Transfer von Milz T-Lymphozyten HSA- und FCA-vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3-9 Monate alt) und Zweitimmunisierung mit HSA (C)

Tiernr.: 1679, 1781, 2355, 2361

Tage nach Zelltransfer	A ↓ -35	B ↓ -1	C ↓ 2	6	13	20	32
<u>IgG</u>							
$\bar{x}$	103	66	38	50	41	40	36
s	46	45	43	56	18	20	12
n	4	4	4	4	4	4	4
<u>IgM</u>							
$\bar{x}$	7426	15077	9390	10541	10109	5707	6818
s	3369	4053	5199	5316	4334	2507	5763
n	4	4	4	4	4	4	4
<u>IgA</u>							
$\bar{x}$	866	1469	821	852	956	750	707
s	242	305	158	77	149	249	194
n	4	4	4	4	4	4	4

Tabelle 9 (s. Abb.9)

Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log \bar{x}$) unbestrahlter nicht vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfänger-tiere (älter als 4 Monate) nach Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3 Monate alt; I), Immunisierung mit HSA (II) und Verabreichung von FCA (III)

Tiernr.: 2395, 2410, 2414, 2419

Tage nach Zelltransfer	I ↓ 0	II ↓ 5	III ↓ 8	13	32	
<u>Gesamtstiter</u>						
$\bar{x}$	0,0	0,0	7,6	9,0	5,8	
s	0,0	0,0	1,1	0,9	1,0	
n	4	4	4	4	4	
<u>ME-resistente Antikörper</u>						
$\bar{x}$	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
s	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
n	4	4	4	4	4	

Tabelle 10 (s. Abb.10)

Anti-HSA-IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) unbestrahlter nicht vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3 Monate alt; I), Immunisierung mit HSA (II) und Verabreichung von FCA (III)

Tiernr.: 2395, 2410, 2414, 2419

Tage nach Zelltransfer	I ↓ 0	II ↓ 5	III ↓ 8	13	32	
<u>Anti-HSA-IgG</u>						
$\bar{x}$	0	1	26	20	4	
s	0	1	32	31	4	
n	4	4	4	4	4	
<u>Anti-HSA-IgM</u>						
$\bar{x}$	0	4	488	996	67	
s	0	8	403	804	55	
n	4	4	4	4	4	
<u>Anti-HSA-IgA</u>						
$\bar{x}$	0	0	66	74	5	
s	0	0	60	55	2	
n	4	4	4	4	4	

Tabelle 11 (s. Abb.11)

IgG- IgM- und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Serum unbestrahlter nicht vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3 Monate alt; I), Immunisierung mit HSA (II) und Verabreichung von FCA (III)

Tiernr.: 2395, 2410, 2414, 2419

Tage nach Zelltransfer	I II 0 ↓↓	5	III 8 ↓	13	32	
<u>IgG</u>						
$\bar{x}$	32	54	133	106	65	
s	18	67	128	48	32	
n	4	4	4	4	4	
<u>IgM</u>						
$\bar{x}$	5707	6189	7187	7495	14808	
s	2457	2218	2047	3077	4364	
n	4	4	4	4	4	
<u>IgA</u>						
$\bar{x}$	555	726	651	680	1006	
s	132	64	166	138	276	
n	4	4	4	4	4	

Tabelle 12 (s. Abb.12)

Anti-HSA-Hämagglutinationstiter ($-\log_2 \bar{x}$) unbestrahlter HSA-vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogammaglobulinämischer Spendertiere (3 Monate alt; I), Immunisierung mit HSA (II) und Verabreichung von FCA (III)

Tiernr.: 1828, 2406, 2425, 2427

Tage nach Zelltransfer	I II 0 ↓↓	5	III 8 ↓	13	32	
<u>Gesamtiter</u>						
$\bar{x}$	1,3	1,3	4,4	6,2	4,0	
s	0,5	0,5	1,2	0,9	0,8	
n	4	4	4	4	4	
<u>ME-resistente Antikörper</u>						
$\bar{x}$	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	
s	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	
n	4	4	4	4	4	

Tabelle 13 (s. Abb.13)						
Anti-HSA-IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) unbe- strahlter, HSA-vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normogamma- globulinämischer Spendertiere (3 Monate alt; I), Immuni- sierung mit HSA (II) und Verabreichung von FCA (III)						
Tiernr.: 1828, 2406, 2425, 2427						
Tage nach Zelltransfer	I ↓ 0	II ↓ 5	III ↓ 8	13	32	
<u>Anti-HSA-IgG</u>						
$\bar{x}$	0	2	50	147	70	
s	0	1	91	261	132	
n	4	4	4	4	4	
<u>Anti-HSA-IgM</u>						
$\bar{x}$	63	78	643	1490	329	
s	31	36	427	579	188	
n	4	4	4	4	4	
<u>Anti-HSA-IgA</u>						
$\bar{x}$	4	8	61	131	36	
s	2	5	42	74	27	
n	4	4	4	4	4	

Tabelle 14 (s. Abb.14)						
IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) im Serum unbe- strahlter HSA-vorimmunisierter dysgammaglobulinämischer Empfängertiere (älter als 4 Monate) nach Transfer von Milz B- und T-Lymphozyten nicht vorimmunisierter normo- gammaglobulinämischer Spendertiere (3 Monate alt; I), Immunsierung mit HSA (II) und Verabreichung von FCA (III)						
Tiernr.: 1828, 2406, 2425, 2427						
Tage nach Zelltransfer	I ↓ 0	II ↓ 5	III ↓ 8	13	32	
<u>IgG</u>						
$\bar{x}$	80	108	263	350	444	
s	38	79	226	527	706	
n	4	4	4	4	4	
<u>IgM</u>						
$\bar{x}$	8120	9974	13232	14299	21796	
s	2963	2645	6841	7071	3534	
n	4	4	4	4	4	
<u>IgA</u>						
$\bar{x}$	631	601	887	786	1320	
s	354	194	394	266	516	
n	4	4	4	4	4	

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADDISON, I.E.

A comparison of thymus dependent and thymus independent antibody responses made by different numbers and populations of immunocompetent cells.

Br. J. exp. Path. 55, 177 (1974)

2. ALTMANN, B.

Die Beeinflussung gestörter und unreifer Immunsysteme durch bakterielles Lipopolysaccharid am Beispiel des Haushuhns.

Dissertation, München (1984)

3. ANDERSON, R.E., SPRENT, J., MILLER, J.F.A.P.

Radiosensitivity of T-lymphocytes and B-lymphocytes.

1. Effect of irradiation on cell migration.

Eur. J. Immunol. 4, 199 (1974)

4. ANDERSON, R.E., WARNER, N.L.

Radiosensitivity of T-lymphocytes and B-lymphocytes.

3. Effect of irradiation on immunoglobulin production by B-cells.

J. Immunol. 115, 161 (1975)

5. ANDERSON, R.E., WARNER, N.L.

Ionizing radiation and the immune response.

In: Advances in Immunology, p. 215.

Eds.: Dixon, F.J., Kunkel, H.G.

Academic Press, New York, San Francisco, London (1976)

6. ANTOINE, J.C., PETIT, C., BACH, M.A., BACH, J.F.,

SALOMON, J.C., AVRAMEAS, S.

T cell dependence of cells synthesizing immunoglobulin without detectable antibody function induced after an antigenic stimulation.

Eur. J. Immunol. 7, 336 (1977)

7. ARALA-CHAVES, M.P., KORN, J.H., GALBRAITH, G.M.P.,
PORTO, M.T., SMITH, C.L., FUDENBERG, H.H.
Effects of thymosin and evidence of monocyte suppression
of both T- and B-cell functions in two cases of common
variable immunodeficiency.
Scand. J. Immunol. 15, 97 (1982)
8. ATWATER, J.S., TOMASI, T.B.
Suppressor cells and IgA deficiency.
Clin. Immunol. Immunopathol. 9, 379 (1978)
9. BABA, T., KITA, M.
Effects of extracts of the bursa of Fabricius on IgG
antibody production in hormonally bursectomized chickens.
Immunology 32, 271 (1977)
10. BENEDICT, A.A., BROWN, R.J., HERSH, R.
Inactivation of high and low molecular weight chicken
antibodies by mercaptoethanol.
J. Immunol. 90, 399 (1963)
11. BLAESE, R.M., MUCHMORE, A.V., KOSKI, I., DOOLEY, N.J.
"Infectious" agammaglobulinemia: suppressor T cells
with specificity for individual immunoglobulin classes.
Adv. Exp. Med. Biol. 88, 155 (1977)
12. BLAESE, R.M., PIKE, S., TOSATO, G.
Suppressor T-cell function in man: suppression of
immunoglobulin production by the direct action of immuno-
regulatory T-cells on the B-cell in four separate,
distinct systems.
Clin. Immunol. Immunopathol. 23, 162 (1982)

13. BLAESE, R.M., WEIDEN, P.L., KOSKI, I., DOOLEY, N.
Infectious agammaglobulinemia: transmission of immuno-
deficiency with grafts of agammaglobulinemic cells.
J. Exp. Med. 140, 1097 (1974)
14. BOTTOMLY, H.K., PERKINS, W.D., SCHWARZ, M.R.
Uridine-H-3 incorporation by small lymphocytes of
tolerant rats. Relationship to T-lymphocytes and
B-lymphocytes.
J. Immunol. 115, 648 (1975)
15. BREMER, K., FLIEDNER, T.M.
RNA-metabolism of circulating lymphocytes studied in
man after autotransfusion and in vitro ³H-Cytidine
labeling.
Acta Haemat. 45, 181 (1971)
16. BREMER, K., SCHREML, W., HARRISS, E.B.
Comparative studies on the in vitro uptake of ³H-Cytidine
and ³H-Uridine by normal and leukemic lymphocytes.
Scand. J. Haemat. 11, 122 (1973)
17. CARLSSON, J., JOHANSON, K.J., SAFWENBERG, J.O.
Age-dependent changes in the metabolism of ³H-Thymidine
and ³H-Uridine in young rats.
Growth 43, 105 (1979)
18. CARSWELL, E.A., LERMAN, S.P., THORBECKE, G.J.
Properties of reticulum-cell sarcomas in SJL-J mice.
2. Fate of labeled tumor cells in normal and irradiated
syngeneic mice.
Cell. Immunol. 23, 39 (1976)

19. CHANH, T.C., BENEDICT, A.A., TAM, L.Q., ABPLANALP, H.,
GERSHWIN, M.E.

Inherited 7S immunoglobulin deficiency in chickens:
presence of suppressor T cells that suppress synthesis
of 7S immunoglobulin but not IgM.

J. Immunol. 125, 108 (1980)

20. CHOI, Y.S.

Biosynthesis and secretion of antibodies by chicken
lymphoid cells.

II. Cooperation between carrier-specific T and hapten-
specific B-lymphocytes for the development of anti-
hapten immune response.

Immunochemistry 14, 59 (1977)

21. COOPER, H.L.

Lymphocyte RNA-labeling with ^3H -Uridine. Correction of
data by analysis of UTP pool saturation kinetics.

In: Proceedings of the 7th Leucocyte Culture Conference,
p. 119, Academic Press Inc., New York, London (1973)

22. CRONKITE, E.P.

Radiosensitivity of lymphocytes.

Strahlenschutz Forsch. Prax. 13, 13 (1973)

23. CRONKITE, E.P., CHANANA, A.D., JOEL, D.D., LAISSUE, J.

Lymphocyte repopulation and restoration of cell-mediated
immunity following radiation: whole body and localized
irradiation.

In: Interaction of radiation and host immune defense
mechanisms in malignancy, p. 181.

Eds.: Bond, V.P. et al., Brookhaven Natl. Lab. Assoc.
Univ., Inc., U.S. At. Energy Comm., Upton, New York
(1974)

24. DE KRUYFF, R.H., DURKIN, H.G., GILMOUR, D.G.,
THORBECKE, G.J.
Migratory patterns of B lymphocytes.
II. Fate of cells from central lymphoid organs in the
chicken.
Cell. Immunol. 16, 301 (1975)
25. DE KRUYFF, R.H., GILMOUR, D.G., THORBECKE, G.J.
Migratory patterns of B lymphocytes.
III. Inhibition of splenic follicular localization of
transferred chicken bursa cells by preincubation with
Anti-Ig.
J. Immunol. 114, 1700 (1975)
26. DE KRUYFF, R.H., PONZIO, N.M., SCHRATER, A.F.,
THORBECKE, G.J.
Migratory patterns of B lymphocytes.
IV. Effect of Anti-Ig on follicular localization of ra-
dioactively labeled murine spleen and bone marrow cells.
Cell. Immunol. 30, 282 (1977)
27. DE KRUYFF, R.H., PONZIO, N.M., THORBECKE, G.J.
Evaluation of the possible role of B cell receptors in
the tendency of B cells to migrate into follicles
in mice and chickens.
Eur. J. Immunol. 7, 237 (1977)
28. DENNISON, D.K., CLANCY, J.
Uridine-5-H-3 incorporation by small lymphocytes from
transplantation-tolerant and tolerant-reversed rats.
J. Immunol. 122, 1376 (1979)
29. DOENHOFF, M.J., LEUCHARS, E., REES, C.T.
The mitotic activity of, and antibody production by,
sensitized lymphocytes quantified after transfer into
irradiated recipients.
Immunology 31, 205 (1976)

30. DROEGE, W., MALCHOW, D.
Thymus dependence of the antibody response in chickens:
variation with dose of antigen and type of antibody
affected.
Eur. J. Immunol. 2, 35 (1972)
31. DURKIN, H.G., CAPOALE, L., THORBECKE, G.J.
Migratory patterns of B-lymphocytes.
I. Fate of cells from central and peripheral lymphoid
organs in rabbit and its selective alteration by anti-
immunoglobulin.
Cell. Immunol. 16, 285 (1975)
32. DURKIN, H.G., THEIS, G.A., THORBECKE, G.J.
Bursa of Fabricius as site of origin of germinal
center cells.
Nature New Biology 235, 118 (1972)
33. DURKIN, H.G., THORBECKE, G.J.
Preferential destruction of germinal centers by
prednisolone and X-irradiation.
Lab. Invest. 26, 53 (1972)
34. ENGVALL, E., PERLMANN, P.
Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA.
III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-
labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes.
J. Immunol. 109, 129 (1971)
35. ERICKSON, K.L., GERSHWIN, M.E., ABPLANALP, H.,
IKEDA, R., BENEDICT, A.A.
Inherited 7S immunoglobulin deficiency of chickens
is associated with bursal degeneration anomalies.
Dev. Comp. Immunol. 6, 105 (1982)

36. ESKOLA, J.
Cell transplantation into immunodeficient chicken embryos. Reconstituting capacity of cells from the yolk sac at different stages of development and from the liver, thymus, bursa of Fabricius, spleen and bone marrow of 15-day embryos.
Immunology 32, 467 (1977)
37. EVANS, G., IVANYI, J.
Antibody synthesis by chicken spleen cells in vitro. I. Requirements of B cells at various stages after immunization for T cells, macrophages and antigen.
Eur. J. Immunol. 5, 747 (1975)
38. FIEDLER, H., LÖSCH, U., HALA, K.
Establishment of a B-compatible chicken line with normogammaglobulinemia and dysgammaglobulinemia.
Folia biologica (Praha) 26, 17 (1980)
39. FIEDLER, H., LÖSCH, U., HERLYN, D., HOFFMANN-FEZER, G.
Die Auswirkungen neonataler Cyclophosphamidverabreichung (Cy), chirurgischer Bursektomie (BX) und kombinierter Behandlung (Cy + BX) auf die immunologische Leistungsfähigkeit von Küken in verschiedenen Altersstufen.
Zbl. Vet. Med. B, 24, 609 (1977)
40. FIEDLER, H., SCHEU, M., KÜHLMANN-RABENS, I., LÖSCH, U.
Kinetics of delayed-type hypersensitivity (DTH) reactions and Ig levels in FCA-injected dysgammaglobulinemic B12 chickens.
Immunobiol. 158, 293 (1981)
41. FORD, W.L.
Recruitment of recirculating lymphocytes in the antigenically stimulated spleen: specific and non-specific consequences of initiating a secondary antibody response.
Clin. exp. Immunol. 12, 243 (1972)

42. FORD, W.L.
Lymphocyte migration and immune responses.
Prog. Allergy 19, (1975)
43. FORD, W.L., HUNT, S.V.
The preparation and labelling of lymphocytes.
In: Handbook of experimental immunology, chap. 23.
Ed.: Weir, D.M.
Blackwell Scientific Publications, Oxford (1978)
44. FORD, W.L., SIMMONDS, S.J.
Tempo of lymphocyte recirculation from blood to lymph
in rat.
Cell. Tissue Kinet. 5, 175 (1972)
45. FORD, W.L., SMITH, M.E.
Experimental approaches to lymphocyte traffic:
pitfalls of the tracer sample method.
Adv. Exp. Med. 149, 139 (1982)
46. FORD, W.L., SMITH, M.E., ANDREWS, P.
Possible clues to the mechanism underlying the
selective migration of lymphocytes from the blood.
In: Cell-cell recognition, p. 359.
Ed.: Curtis, A.S.G.
Cambridge University Press, New York (1978)
47. GERSHON, R.K.
Disquisition on suppressor T-cells.
Transplant. Rev. 26, 170 (1975)
48. GOTTLIEB, C.F., GENGOZIAN, N.
Radiation dose, dose rate, and quality in suppression
of the humoral immune response.
J. Immunol. 109, 719 (1972)

49. GOWANS, J.L., KNIGHT, E.J.
The route of recirculation of lymphocytes in the rat.
Proc. Roy. Soc. Biol. 159, 257 (1964)
50. GREBENAU, M.D., LERMAN, S.P., CHI, D.S., THORBECKE, G.J.
Transfer of agammaglobulinemia in the chicken.
I. Generation of suppressor activity by injection of
bursa cells.
Cell. Immunol. 51, 92 (1980)
51. GREBENAU, M.D., LERMAN, S.P., PALLADINO, M.A.,
THORBECKE, G.J.
Suppression of adoptive antibody responses by addition
of spleen cells from agammaglobulinemic chickens
"immunized" with histocompatible bursa cells.
Nature (London) 260, 46 (1976)
52. GRISCELL, C., VASSALLI, P., MCCLUSKE, R.T.
Distribution of large dividing lymph node cells in
syngeneic recipient rats after intravenous injection.
J. Exp. Med. 130, 1427 (1969)
53. GROBLER, P., BUERKI, H., COTTIER, H., HESS, M.W.,
STONER, R.D.
Cellular bases for relative radioresistance of the
antibody-forming system at advanced stages of the
secondary response to tetanus toxoid in mice.
J. Immunol. 112, 2154 (1974)
54. GROSSI, C.E., LYDYARD, P.M., COOPER, M.D.
Unique aspects of immunoglobulin expression during
early B cell differentiation in the chicken.
In: Avian Immunology,
Ed.: Benedict, A.A., Plenum Press, New York (1977)

55. GUPTA, S., GOOD, R.A.
Subpopulations of human T lymphocytes.
III. Distribution and quantitation in peripheral
blood, cord blood, tonsils, bone marrow, thymus,
lymph nodes, and spleen.
Cell. Immunol. 36, 263 (1978)
56. GUTMAN, G.A., WEISSMAN, I.L.
Evidence that uridine incorporation is not a
selective marker for mouse lymphocyte subclasses.
J. Immunol. 115, 739 (1975)
57. HALA, K.
Adoptive transfer of antibody formation by various
cell types in chickens and an attempt to demonstrate
synergism.
Folia biologica (Praha) 20, 262 (1974)
58. HAMAOKA, T., KATZ, D.H., BENACERRAF, B.
Radioresistance of carrier-specific helper thymus-
derived lymphocytes in mice.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 69, 3453 (1972)
59. HATTORI, T., UCHIYAMA, T., TAKATSUKI, K.,
UCHINO, H., SUEHIRO, Y.
A case of selective immunoglobulin G deficiency:
analysis of coculture with normal lymphocytes in vitro.
Clin. Immunol. Immunopathol. 18, 95 (1981)
60. HERZENBERG, L.A., OKUMURA, K., CANTOR, H., SATO, V.L.,
SHEN, F-W., BOYSE, E.A., HERZENBERG, L.A.
T-cell regulation of antibody responses:
Demonstration of allotype-specific helper T cells and
their specific removal by suppressor T cells.
J. Exp. Med. 144, 330 (1976)

61. HERZENBERG, L.A., OKUMURA, K., METZLER, C.M.
Regulation of immunoglobulin and antibody production
by allotype suppressor T-cells in mice.
Transplant. Rev. 27, 57 (1975)

62. HIROTA, Y., BITO, Y.
The role of the thymus for maturation of transferred
bursa cells into immunocompetent B cells in chickens
treated with cyclophosphamide.
Immunology 35, 889 (1978)

63. HOFFMANN-FEZER, G., RODT, H., GÖTZE, D., THIERFELDER, S.
Anatomical distribution of T and B lymphocytes identi-
fied by immunohistochemistry in the chicken spleen.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 55, 86 (1977)

64. HOLLINGSWORTH, J.W., CARR, J.
H-3-Uridine incorporation as a T-lymphocyte indicator
in rat.
Cell. Immunol. 8, 270 (1973)

65. HOPKINS, W.J.
Restoration of suppressor function in athymic mice.
Immunology 34, 309 (1978)

66. HOWARD, J.C.
Life-span and recirculation of marrow-derived small
lymphocytes from rat thoracic-duct.
J. Exp. Med. 135, 185 (1972)

67. HOWARD, J.C., HUNT, S.V., GOWANS, J.L.
Identification of marrow-derived and thymus-derived
small lymphocytes in lymphoid tissue and thoracic-duct
lymph of normal rats.
J. Exp. Med. 135, 200 (1972)

68. HRABA, T., KARAKOZ, I., NEMECKOVA, S., MADAR, J.
Persistence of immunological tolerance to HSA in
chickens after cell transfer to immunosuppressed hosts.
Folia biologica (Praha) 24, 173 (1978)
69. IVANYI, J.
Prevention of graft versus host reactions and
conditioning of recipients for bone marrow
transplantation in chickens.
In: *Immunobiology of bone marrow transplantation*, p. 219
Eds.: Thierfelder, S., Rodt, H., Kolb, H.J.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1980)
70. IVANYI, J.
Functions of the B-lymphoid system in chickens.
In: *Avian Immunology*,
Eds.: Rose, M.E., Payne, L.N., Freeman, B.M.
Edinburgh, British Poultry Science Ltd. (1982)
71. IVANYI, J., MAKINGS, C.W.
Antagonism between donor and host B cells in
allotype congenic chicken chimeras.
Transplantation 26, 221 (1978)
72. JACOBSON, E.B.
Adoptive transfer of allotype-specific suppressor
cells inhibits thymus-independent immunoglobulin
production in syngeneic athymic mice.
J. Exp. Med. 148, 607 (1978)
73. JANEWAY, C.A.
Cellular cooperation during in vivo anti-hapten
antibody responses.
2. Effect of in vivo and in vitro X-irradiation on
T-cells and B-cells.
J. Immunol. 114, 1402 (1975)

74. JAROSLOW, B.N., NOSSAL, G.J.V.
Effects of X-irradiation on antigen localization
in lymphoid follicles.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 44, 609 (1966)
75. JORDAN, S.W.
Ultrastructural studies of spleen after whole body
irradiation of mice.
Exp. Mol. Pathol. 6, 156 (1967)
76. JULIUS, M.H., SIMPSON, E., HERZENBERG, L.A.
A rapid method for isolation of functional thymus-
derived murine lymphocytes.
Eur. J. Immunol. 3, 645 (1973)
77. KADISH, J.L., BASCH, R.S.
Thymic regeneration after lethal irradiation:
evidence for an intra-thymic radioresistant T-cell
precursor.
J. Immunol. 114, 452 (1975)
78. KATAOKA, Y., SADO, T.
Radiosensitivity of T-lymphocytes and B-lymphocytes
in mice.
Immunology 29, 121 (1975)
79. KATZ, D.H.
Lymphocyte differentiation, recognition and regulation.
Academic Press, New York (1977)
80. KATZ, D.H., PAUL, W.E., GOIDL, E.A., BENACERRAF, B.
Radioresistance of cooperative function of carrier-
specific lymphocytes in anti-hapten antibody responses.
Science 170, 462 (1970)

81. KERMANI-ARAB, V., LESLIE, G.A.
Suppression of immunoglobulin-synthesis by transplantation of T cells from anti- μ bursectomized chickens into normal recipients.
J. Immunol. 119, 530 (1977)
82. KETTMAN, J., DUTTON, R.W.
Radioresistance of enhancing effect of cells from carrier-immunized mice in an in vitro primary immune response.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 68, 699 (1971)
83. KINCADE, P.W., COOPER, M.D.
Development and distribution of immunoglobulin containing cells in the chicken.
J. Immunol. 106, 371 (1971)
84. KINCADE, P.W., COOPER, M.D.
Immunoglobulin A: site and sequence of expression in developing chicks.
Science 179, 398 (1973)
85. KINDRED, B.
Immune systems in the nude mouse.
In: Immunologic defects in laboratory animals, p. 215.
Eds.: Gershwin, M.E., Merchant, B.
Plenum Press New York and London (1981)
86. KLOBUSICKA, M., BABUSIKO, O., KONIKOVA, E., NOVOTNA, L.
Characterization of thymus lymphocytes and bone marrow-derived lymphocytes in rats by means of ^3H -Uridine incorporation.
Neoplasma 22, 631 (1975)

87. KLUMPNER, W.
Verlaufsuntersuchungen über die postnatalen Immun-
globulinkonzentrationen im Serum normo- und dysgamma-
globulinämischer B12-Hühner.
Dissertation, München (1980)
88. KOBOW, U., WEILER, E.
Permissiveness of athymic ("nude") mice towards
congeneic memory cells.
Eur. J. Immunol. 5, 628 (1975)
89. KRANTMANN, H.J., STIEM, E.R., STEVENS, R.H.,
SAXON, A., SEEGER, R.C.
Abnormal B cell differentiation and variable increased
T cell suppression in immunodeficiency with hyper-IgM.
Clin. exp. Immunol. 40, 147 (1980)
90. KÜHLMANN-RABENS, I., WANKE, R., STORANDT, F.,
ALTMANN, B., LÖSCH, U., MERKENSCHLAGER, M.
Attempts of defect localisation in UM-B19 chickens
by means of immunomodulating operations.
In Vorbereitung
91. LALLY, E.T., FIORINI, R.C., MONTGOMERY, P.C.
Co-operative cellular interactions in the generation
of adoptively-transferred murine IgA responses.
Immunology 44, 695 (1981)
92. LAWTON, A.R., KINCADE, P.W., COOPER, M.D.
Sequential expression of germ line genes in
development of immunoglobulin class diversity.
Fed. Proc. 34, 33 (1975)

93. LERMAN, S.P., GREBENAU, M.D., CHI, D.S.,
PALLADINO, M.A., GALTON, J., THORBECKE, G.J.
Transfer of agammaglobulinemia in the chicken.
II. Characterization of the target of suppression.
Cell. Immunol. 51, 109 (1980)
94. LERNER, K.G., GLICK, B., MCDUFFIE, F.C.
Role of the bursa of Fabricius in IgG and IgM production
in the chicken: evidence for the role of a non-bursal
site in the development of humoral immunity.
J. Immunol. 107, 493 (1971)
95. LÖSCH, U., KÜHLMANN, I., KLUMPNER, W., FIEDLER, H.
Course of serum-Ig concentrations in B12 chickens
of the UM line.
Immunobiol. 158, 416 (1981)
96. LÖSCH, U., WANKE, R., KÜHLMANN, I.
FCA induces a switch from IgM to IgA antibodies in IgG
deficient chickens of the UM-B19 line.
Special FEBS, Meeting, Athens (1982)
97. LÖSCH, U., WANKE, R., MERKENSCHLAGER, M.
Antikörper-Isotypen nach Immunisierung genuin
dysgammaglobulinämischer UM-B19 Hühner.
Zbl. Vet. Med. A, 29, 365 (1982)
98. LUSTER, M.I., KERMANI-ARAB, V., LESLIE, G.A.
Restoration of humoral immune functions following trans-
plantation of peripheral blood lymphocytes into
cyclophosphamide-treated chicks.
Cell. Immunol. 26, 47 (1976)
99. LUSTER, M.I., LESLIE, G.A.
Restoration of IgA synthesis following transplantation
of histocompatible bursa cells into cyclophosphamide-
treated chicks.
Cell. Immunol. 20, 269 (1975)

100. LYDYARD, P.M., HAYWARD, A.R.
Induction of suppression through human T-cell interactions.
Clin. exp. Immunol. 39, 496 (1979)
101. MANCINI, G., CARBONARA, A.O., HEREMANS, J.F.
Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochemistry 2, 235 (1965)
102. MARTIN, L.M., LESLIE, G.A.
IgM-forming cells as the immediate precursor of IgA-producing cells during ontogeny of the immunoglobulin-producing system of the chicken.
J. Immunol. 113, 120 (1974)
103. MCCULLAGH, P.
Radiosensitivity of suppressor cells in newborn rats.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 53, 399 (1975)
104. MERKENSCHLAGER, M., RIEDEL, G., KIRCHNER, B., LÖSCH, U.
Die Immunglobuline bursektomierter Küken in der Immunelektrophorese (IE).
Naturwissenschaften 16, 408 (1966)
105. MHYRE, J.G., SCHWARZ, M.R.
H-3-Uridine incorporation by small lymphocytes.
Transplantation 15, 540 (1973)
106. MILLER, J.J., COLE, L.J.
Radiation resistance of long-lived lymphocytes and plasma cells in mouse and rat lymph nodes.
J. Immunol. 98, 982 (1967)

107. MONTOUR, J.L.
Abscopal radiation damage to chick thymus and bursa
of Fabricius.
Acta Radiol. 10, 150 (1971)
108. MORETTA, L., WEBB, S.R., GROSSI, C.E., LYDYARD, P.M.,
COOPER, M.D.
Functional analysis of two human T-cell subpopulations:
help and suppression of B-cell responses by T-cells
bearing receptors for IgM or IgG.
J. Exp. Med. 146, 184 (1977)
109. MOTICKA, E.J.
The presence of immunoregulatory cells in chicken
thymus: function in B-cell and T-cell responses.
J. Immunol. 119, 987 (1977)
110. NETTESHEIM, P., WILLIAMS, M.L., HAMMONS, A.S.
Regenerative potential of immunocompetent cells.
3. Recovery of primary antibody-forming potential
from X-irradiation - role of thymus.
J. Immunol. 103, 505 (1969)
111. NICHOLS, W.S., TROUP, G.M., ANDERSON, R.E.
Radiosensitivity of sensitized and non-sensitized
human lymphocytes evaluated in vitro.
Am. J. Pathol. 79, 499 (1975)
112. NOSSAL, G.J.V., PIKE, B.L.
Studies on differentiation of B-lymphocytes in mouse.
Immunology 25, 33 (1973)
113. PALLADINO, M.A., LERMAN, S.P., GILMOUR, D.G.,
THORBECKE, G.J.
Acute γ -irradiation-induced mortality in chickens.
I. Mechanism of resistance afforded by pretreatment
with cyclophosphamide or sublethal irradiation.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 155, 209 (1977)

114. PALLADINO, M.A., LERMAN, S.P., THORBECKE, G.J.
Transfer of hypogammaglobulinemia in two inbred
chicken strains by spleen cells from bursectomized
donors.
J. Immunol. 116, 1673 (1976)
115. PANIGRAPHY, P.
Immunostimulating effect of levamisole in immuno-
suppressed turkeys.
Poultry Science 57, 1177 (1978)
116. PARROTT, D.M.V., FERGUSON, A., DE SOUSA, M.A.B.
Factors affecting traffic and segregation of lymphoid
cell populations.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 45, 240 (1973)
117. PAZDERKA, F., LONGENECKER, B.M., LAW, G.R.J., RUTH, R.F.
The major histocompatibility complex of the chicken.
Immunogenetics 2, 101 (1975)
118. PEARL, E.R., LAWTON, A.R., COOPER, M.D.
Informative defects of B lymphocyte differentiation
in human antibody deficiency disorders.
In: B lymphocytes in the immune response, p. 341.
Eds.: Cooper, M.D., Mosier, D.E., Scher, I.,
Vitetta, E.S., Elsevier/North-Holland, New York (1979)
119. PEREY, D.Y.E., BIENENSTOCK, J.
Effects of bursectomy and thymectomy on ontogeny
of fowl IgA, IgG and IgM.
J. Immunol. 111, 633 (1973)
120. PIENKOWSKI, M.M., LYERLY, M.M., MILLER, H.C.
Rapid lymphocyte immunoreactivity test utilizing
H-3-Uridine in vitro.
J. Immunol. Methods 24, 163 (1978)

121. RANNIE, G.H., DONALD, K.J.
Estimation of migration of thoracic-duct lymphocytes to non-lymphoid tissues. Comparison of distribution of radioactivity at intervals following i.v. transfusion of cells labeled with H-3, C-14, Se-75, Tc-99M, I-125 and Cr-51 in rat.
Cell. Tissue Kinet. 10, 523 (1977)
122. ROBSON, L.C., SCHWARZ, M.R.
Vitamin-B6 deficiency and lymphoid system.
I. Effects on cellular immunity and in vitro incorporation of H-3-Uridine by small lymphocytes.
Cell. Immunol. 16, 135 (1975)
123. ROSENBERG, Y.J., ASOFSKY, R.
T cell regulation of isotype expression.
The requirement for a second Ig-specific helper T cell population for the induction of IgG responses.
Eur. J. Immunol. 11, 705 (1981)
124. ROSSE, W.F., RAPP, H.J., BORSOS, T.
Structural characteristics of hemolytic antibodies as determined by effects of ionizing radiation.
J. Immunol. 98, 1190 (1967)
125. RYGAARD, J.
Immunodeficiency in nude mice.
In: Thymus aplastic nude mice and rats in clinical oncology,
Eds.: Bastert, G., Fortmeyer, H.P., Schmid-Matthiessen, H.
G. Fischer Verlag, Stuttgart, New York (1982)
126. SACHS, L.
Statistische Methoden.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1976)

127. SCHEIDEGGER, J.J.
Une micromethode de l'immune-électrophorèse.
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)
128. SCHRÖCK, H.D.
Studien zum genetischen Hintergrund der erblich
dysgammaglobulinämischen B12B12-Hühnerlinie.
Dissertation, München (1978)
129. SCHWARTZ, S.A., CHOI, Y.S., SHOU, L., GOOD, R.A.
Modulatory effects on immunoglobulin-synthesis and
secretion by lymphocytes from immunodeficient patients.
J. Clin. Invest. 59, 1176 (1977)
130. SCHWARTZ, S.A., GOOD, R.A.
Class-specific suppression of immunoglobulin-
synthesis and secretion.
J. Allergy Clin. Immunol. 61, 144 (1978)
131. SCOTT, D.W., JOSEPHS, S.H.
Uridine labeling of human lymphocytes:
differential uptake by T-cell and B-cell.
Cell. Immunol. 20, 64 (1975)
132. SCOTT, D.W., MCKENZIE, R.G.
Rat B-cells - Identity of immunoglobulin-bearing cells
with a population of lightly uridine-labeled cells.
Cell. Immunol. 12, 61 (1974)
133. SIEGAL, F.P., SIEGAL, M., GOOD, R.A.
Suppression of B-cell differentiation by leucocytes
from hypogammaglobulinemic patients.
J. Clin. Invest. 58, 109 (1976)

134. SIEGAL, F.P., SIEGAL, M., GOOD, R.A.
Role of helper, suppressor and B-cell defects in the
pathogenesis of the hypogammaglobulinemias.
N. Eng. J. Med. 299, 172 (1978)
135. SLJIVIC, V.S.
Radiation and the phagocytic function of the
reticuloendothelial system.
I. Enhancement of RES function in X-irradiated mice.
Br. J. exp. Path. 51, 130 (1970)
136. SORVARI, T.E., TOIVANEN, A.
Transplantation of bursal stem cells into cyclophos-
phamid-treated chicks. Lymphoid repopulation of splenic
structures.
Scand. J. Immunol. 5, 317 (1976)
137. SPRENT, J.
Migration and lifespan of lymphocytes.
In: B and T cells in immune recognition, p. 59.
Eds.: Loor, F., Roelants, G.E.
J. Wiley and Sons, New York (1977)
138. SPRENT, J., ANDERSON, R.E., MILLER, J.F.A.P.
Radiosensitivity of T and B lymphocytes.
2. Effect of irradiation on response of T cells to
alloantigens.
Eur. J. Immunol. 4, 204 (1974)
139. STAUB, M., SASVARI-SZEKELEY, M., SPASOKUKOTSKAJA, T.,
ANTONI, F., MERETÉY, K.
Differences between human lymphocyte subpopulations
with respect to the uptake and incorporation of
H-3-Uridine and ribonucleoside triphosphate pools.
Biochem. Med. 19, 218 (1978)

140. STONER, R.D., HESS, M.W., TERRES, G.
Primary and secondary antibody responses related to radiation exposures.
In: Interaction of radiation and host immune defense mechanisms in malignancy, p. 152.
Eds.: Bond, V.P. et al., Brookhaven Natl. Lab. Assoc. Univ., Inc., U.S. At. Energy Comm., Upton, New York (1974)
141. STORANDT, F.
Die Beeinflussung des Isotypmusters immundefekter Hühner durch Levamisol.
Dissertation, München (1983)
142. SUBBA RAO, D.S.V., MCDUFFIE, F.C., GLICK, B.
The regulation of IgM production in the chick: roles of the bursa of Fabricius, environmental antigens, and plasma IgG.
J. Immunol. 120, 783 (1978)
143. SZENBERG, A., LIND, P., CLARKE, K.
IgG and IgM antibodies in fowl serum.
J. Exp. Biol. Med. Sci. 43, 451 (1965)
144. TAKADA, A., TAKADA, Y., HUANG, C.C., AMBRUS, J.L.
Biphasic pattern of thymus regeneration after whole-body irradiation.
J. Exp. Med. 129, 445 (1969)
145. TAM, L.Q., BENEDICT, A.A.
Elevated 7S immunoglobulin and acute phase proteins in adjuvant-injected chickens.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 150, 340 (1975)

146. TAVASSOLI, M., SACKS, P.V., CROSBY, W.H.
Effect of in vitro irradiation on subsequent growth
of ectopic splenic autoimplants.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 148, 780 (1975)
147. TAYLOR, R.B., WORTIS, H.H.
Thymus dependence of antibody response: variation with
dose of antigen and class of antibody.
Nature (London) 220, 927 (1968)
148. THORBECKE, G.J., JACOBSON, E.B., ASOFSKY, R.
Gamma-globulin and antibody formation in vitro.
4. Effect on secondary response of X-irradiation
given at varying intervals after primary injection
of bovine gamma-globulin.
J. Immunol 92, 734 (1964)
149. TOIVANEN, A., TOIVANEN, P.
Histocompatibility requirements for cellular coopera-
tion in the chicken: generation of germinal centers.
J. Immunol. 118, 431 (1977)
150. TOIVANEN, P., JALKANEN, S., EEROLA, E.,
JALKANEN, M., GRANFORS, K.
Immune capacity of the chicken bursectomized at
60 hours of incubation.
XXIInd Intern. Symposium on biological models,
Acad. of Science, Prag, Hruba Skala (1984)
151. TOIVANEN, P., TOIVANEN, A.
Bursal and postbursal stem cells in chicken.
Functional characteristics.
Eur. J. Immunol. 3, 585 (1973)

152. TOIVANEN, P., TOIVANEN, A., GOOD, R.A.
Ontogeny of bursal function in chicken.
I Embryonic stem cell for humoral immunity.
J. Immunol. 109, 1058 (1972)
153. TOIVANEN, P., TOIVANEN, A., LINNA, T.J., GOOD, R.A.
Ontogeny of bursal function in chicken.
II. Postembryonic stem cell for humoral immunity.
J. Immunol. 109, 1071 (1972)
154. TOIVANEN, P., TOIVANEN, A., RUOTSALAINEN, P.,
ANTTI-POIKA, I.
Transplantation of lymphoid cells into immunodeficient
chickens. Dissociation in the reconstitution of B and
T cell functions.
Clin. Immunol. Immunopathol. 3, 315 (1975)
155. TOIVANEN, P., TOIVANEN, A., TAMMINEN, P.
Bursal and postbursal cells in chicken. Occurrence of
postbursal cells in bone-marrow, thymus and spleen.
Eur. J. Immunol. 4, 405 (1974)
156. TOIVANEN, P., TOIVANEN, A., VAINIO, O.
Complete restoration of bursa-dependent immune system
after transplantation of semiallogeneic stem cells into
immunodeficient chicks.
J. Exp. Med. 139, 1344 (1974)
157. VAN ROOIJEN, N.
Labeling of lymphocytes with various radio-
isotopes for in vivo tracer studies.
J. Immunol. Methods 15, 267 (1977)
158. VAUGHAN, W.P., MCGREGOR, D.D.
RNA metabolism in TDL from thymectomized rats.
J. Cell. Physiol. 78, 465 (1971)

159. WAKSMAN, B.H.
Adjuvants and immune regulation by lymphoid cells.
Springer Sem. Immunopathol. 2, 5 (1979)
160. WALDMANN, T.A., BRODER, S.
T-cell disorders in primary immunodeficiency diseases.
Springer Sem. Immunopathol. 1, 239 (1978)
161. WALDMANN, T.A., BRODER, S., KRAKAUER, R.,
MACDERMOTT, R.P., DURM, M., GOLDMAN, C., MEADE, B.
The role of suppressor cells in the pathogenesis
of common variable hypogammaglobulinemia and the
immunodeficiency associated with myeloma.
Fed. Proc. 35, 2067 (1976)
162. WANKE, R.
Untersuchungen zur Immunantwort dysgammaglobu-
linämischer Hühner der Linie UM-B19.
Dissertation, München (1982)
163. WEBER, W.T.
Avian B lymphocyte subpopulations:
origins and functional capacities.
Transplant. Rev. 24, 113 (1975)
164. WELLES, W.L., BATTISTO, J.R.
The significance of hereditary asplenia for
immunologic competence.
In: Immunologic defects in laboratory animals, p. 191.
Eds.: Gershwin, M.E., Merchant, B.
Plenum Press New York and London (1981)

165. WHITE, R.G., HENDERSON, D.C., ESLAMI, M.B.,
NIELSEN, K.H.
Localization of a protein antigen in the chicken
spleen. Effect of various manipulative procedures on
the morphogenesis of the germinal centre.
Immunology 28, 1 (1975)
166. WILLIS, J.I., SCHWARZ, M.R.
The circulating life-span, immunocompetence and
H-3-Uridine uptake of small lymphocytes from
thymus-grafted, neonatally thymectomized rats.
J. Immunol. 115, 734 (1975)
167. WU, C-Y., LANCE, E.M.
Immunoregulation by spleen-seeking thymocytes.
II. Role in response to sheep erythrocytes.
Cell. Immunol. 13, 1 (1974)
168. ZAALBERG, O.B., MEUL, VAN DER V.A., ROSSI, G.
Effect of X-irradiation on appearance of antibody-
forming cells in mouse spleen following injection
of sheep erythrocytes.
Eur. J. Immunol. 3, 698 (1973)
169. ZATZ, M.M., GERSHON, R.K.
Regulation of lymphocyte trapping - negative trap.
J. Immunol. 115, 450 (1975)
170. ZIJPP, VAN DER A.J.
Genetic analysis of the humoral immune response
of white leghorn chickens.
Poultry Science 59, 1363 (1980)
171. ZUBLER, R.H., KANAGAWA, O.
Requirement for three signals in B cell responses.
II. Analysis of antigen- and Ia-restricted
T helper cell-B cell interaction.
J. Exp. Med. 156, 415 (1982)

Herrn Prof. Dr. U. Lösch möchte ich für die Überlassung des Themas und seine stete und verständnisvolle Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit herzlichst danken.

Besonderen Dank möchte ich Frau Dr. Ilona Kühlmann-Rabens, ebenso allen Mitarbeitern des Labors für ihre Hilfsbereitschaft aussprechen.

Des weiteren danke ich auch Frau Dr. Hochhäuser von der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg, für ihre freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Bestrahlungsarbeiten.

Letztendlich danke ich Herrn Prof. Dr. M. Merckenschlager und Herrn Prof. Dr. H. Zucker für den im Institut zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz.

Lebenslauf

09.02.1957	geboren in Oldham / England als Sohn von Ferdinand und Anna Princz, geb. Wögerer
1962 - 1965	Werneth County Infant School in Oldham
1965 - 1967	Werneth County Junior School in Oldham
1967 - 1969	The Hulme Grammar School in Oldham
1969 - 1971	Maidenhead Grammar School in Maidenhead
1972 - 1976	Hohenstaufen-Gymnasium in Göppingen
Mai 1976	Allgemeine Hochschulreife
1976 - 1982	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Februar 1982	Staatsexamen
seit April 1982	Anfertigung der vorliegenden Dissertation
Juli 1982 - Februar 1983	Teilzeitbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

